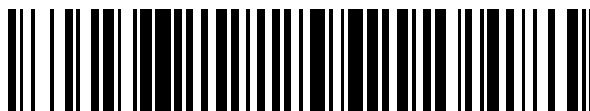


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 846**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/50** (2007.01)

**C07K 14/725** (2006.01)

**C12N 5/0783** (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.01.2015 PCT/EP2015/050581**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.07.2015 WO15107075**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.01.2015 E 15701312 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018 EP 3094354**

54 Título: **Receptor de antígeno quimérico que usa dominios de reconocimiento de antígenos derivados de pez cartilaginoso**

30 Prioridad:

**14.01.2014 DK 201470016**

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

**26.02.2019**

73 Titular/es:

**CELLECTIS (100.0%)  
8, rue de la Croix Jarry  
75013 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**DUCHATEAU, PHILIPPE y  
VALTON, JULIEN**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 701 846 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 quimérico que usa dominios de reconocimiento de antígenos derivados de pez cartilaginoso

### Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de la inmunoterapia celular y más particularmente a una nueva generación de receptores de antígenos quiméricos (CAR), cuya especificidad la confieren polipéptidos de VNAR derivados de anticuerpos monoméricos de pez cartilaginoso. El CAR de la invención puede expresarse en la superficie de células inmunitarias para redirigir su especificidad hacia antígenos específicos, en particular antígenos huecos, tales como componentes de canales iónicos y bombas de flujo de salida que confieren resistencia a fármacos frente a células malignas. La invención abre el camino a estrategias de inmunoterapia adoptiva eficaces, especialmente para el tratamiento de formas de cáncer resistentes a tratamiento.

### Antecedentes de la invención

15 La inmunoterapia adoptiva, que implica la transferencia de células T específicas de antígeno autólogas generadas *ex vivo*, es una estrategia prometedora para tratar infecciones virales y cáncer. Las células T usadas para la inmunoterapia adoptiva pueden generarse o bien mediante expansión de células T específicas de antígeno o bien redirección de células T a través de ingeniería genética (Park, Rosenberg *et al.* 2011). La transferencia de células T específicas de antígenos virales es un procedimiento bien establecido usado para el tratamiento de infecciones virales asociadas a trasplantes y tumores malignos relacionados con virus poco comunes. De manera similar, el aislamiento y la transferencia de células T específicas de tumor han mostrado ser satisfactorios en el tratamiento de melanoma.

20 Se han generado satisfactoriamente especificidades novedosas en células T a través de la transferencia genética de receptores de células T transgénicos o receptores de antígenos quiméricos (CAR) (Jena, Dotti *et al.* 2010). Los CAR son receptores sintéticos que consisten en un resto de direccionamiento que está asociado con uno o más dominios de señalización en una única molécula de fusión. En general, el resto de unión de un CAR consiste en un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo de cadena sencilla (scFv), que comprende los fragmentos variables ligero y pesado de un anticuerpo monoclonal unidos por un ligador flexible. También se han usado satisfactoriamente restos de unión basados en dominios de ligando o receptor. Los dominios de señalización para los CAR de la primera generación se derivan de la región citoplasmática de las cadenas gamma de receptor de Fc o de CD3zeta. Los CAR de la primera generación han mostrado redirigir satisfactoriamente la citotoxicidad de células T, sin embargo, no pudieron proporcionar expansión prolongada y actividad antitumoral *in vivo*. Se han añadido dominios de señalización de moléculas coestimuladoras incluyendo CD28, OX-40 (CD134), ICOS y 4-1BB (CD137) solos (segunda generación) o en combinación (tercera generación) para potenciar la supervivencia y aumentar la proliferación de células T modificadas con CAR. Los CAR han permitido satisfactoriamente que las células T se redirijan contra antígenos expresados en la superficie de células tumorales de diversos tumores malignos incluyendo linfomas y tumores sólidos (Jena, Dotti *et al.* 2010). Sin embargo, por ejemplo, será difícil seleccionar como diana eficazmente algunos antígenos de superficie con anticuerpos clásicos ya que los AcM no pueden acceder a epítopos incrustados en las estructuras proteicas (por ejemplo numerosos receptores de superficie pueden contener el bolsillo de unión a ligando). Además, en anticuerpos de cadena sencilla (scFv), CAR que comprenden los fragmentos variables ligero y pesado de un anticuerpo monoclonal unidos por un ligador flexible tienen limitaciones debido a su tamaño y complejidad estructural que los hace problemáticos de fabricar y predecir su eficacia.

40 En el presente documento, los inventores han aliviado estas limitaciones creando nuevos receptores de antígenos quiméricos en los que la especificidad de antígeno está mediada a través de receptores de antígenos variables (VNAR) derivados de pez cartilaginoso.

### Sumario de la invención

45 A pesar de su éxito, las moléculas de IgG han mostrado limitaciones prácticas como parte de los constructos de CAR actuales. En particular son estructuras tetraméricas grandes (~150 kDa) propensas a provocar reacciones inmunitarias y caras de desarrollar.

VNAR (dominio variable del IgNAR, o receptor de antígeno novedoso) forma una clase única de proteína que se ha identificado en el suero de pez cartilaginoso. El VNAR puede aislarse como un dominio de unión monomérico de 12-15 kDa de tamaño, es decir, un tamaño mucho más pequeño que IgG.

50 Se han identificado VNAR durante varios años como posibles productos bioterapéuticos basándose en su robustez y solubilidad, propensión a unirse a hendiduras de antígenos y bloquear los sitios activos de enzimas, y altas afinidades de unión para una gama de antígenos. Sin embargo, siguen estando mucho peor entendidos estructural y biofísicamente que otros tipos de receptores de antígeno. El dominio VNAR comparte características estructurales con el receptor de células T Va y la cadena Vk de IgG, pero la homología de secuencia con estos dominios es baja (~35%). En contraposición a scFv, los polipéptidos de VNAR tienen la característica común de carecer de CDR2 (CDR = región determinante de complementariedad). Habitualmente contienen un bucle de CDR1 más corto pero un bucle de CDR3 más largo, que crean la superficie de unión principal del dominio.

Dadas estas características, no era predecible que los VNAR fueran adecuados para la construcción de receptores quiméricos eficaces. De hecho, se había considerado hasta la fecha que las arquitecturas de CAR requerían dominios de reconocimiento de antígenos extracelulares bastante extensos para alcanzar antígenos presentes en la superficie de células infectadas o malignas.

- 5 La invención se refiere a un nuevo receptor de antígeno quimérico de este tipo que incluye polipéptidos de VNAR como dominios de reconocimiento de antígenos.

La presente divulgación también se refiere a los polipéptidos que codifican para estos nuevos CAR denominados "VNAR-CAR" y a métodos de modificación por ingeniería genética de células inmunitarias, en particular células T, mediante expresión de dichos polipéptidos celulares. Las células inmunitarias que pueden obtenerse mediante estos métodos debe tolerarlas mejor el organismo del paciente y destruirse más lentamente por el sistema inmunitario.

En realizaciones más específicas, se proponen diferentes arquitecturas para los VNAR-CAR de la invención dependiendo de su estructura de una única cadena o múltiples cadenas, lo que permite la modulación de la interacción y/o activación de la célula inmunitaria tras el reconocimiento del antígeno. El VNAR también puede humanizarse para que contenga secuencias menos inmunogénicas, de manera que las células T que expresan CAR no desencadenen una respuesta inmunitaria a partir del organismo receptor (por ejemplo ser humano). Las células T que expresan los VNAR CAR también pueden modificarse por ingeniería genética para uso terapéutico alogénico, por ejemplo, mediante alteración de los genes que codifican para receptores de células T ( $\Delta$ TCR).

### Breve descripción de las figuras

Figura 1: Estructura general de polipéptidos de VNAR usados como dominios de reconocimiento de antígenos.

20 Figura 2: Alineación de secuencias de cuatro armazones de VNAR a modo de ejemplo representativos de tiburón correspondientes a SEQ ID NO. 1 (E06), SEQ ID NO. 101 (5A7), SEQ ID NO. 102 (7e80) y SEQ ID NO. 115 (12A9).

Figura 3: Representación esquemática de un VNAR-CAR de una única cadena a modo de ejemplo según la invención que comprende (1) un dominio extracelular compuesto por un polipéptido de VNAR que comprende una CDR3 que actúa como dominio de reconocimiento de antígeno principal y una bisagra de CD8, (2) un polipéptido transmembrana que comprende 4-1BB (dominio coestimulador) y CD3zeta (dominio de señalización).

Figura 4: Representación esquemática de un VNAR-CAR de múltiples cadenas a modo de ejemplo según la presente invención basado en la estructura del receptor de Fc $\epsilon$ RI receptor. El polipéptido de VNAR se fusiona con la cadena alfa de Fc $\epsilon$ RI, mientras que el dominio coestimulador se fusiona con la cadena gamma de Fc $\epsilon$ RI y el dominio de señalización con la cadena beta de Fc $\epsilon$ RI.

30 Figuras 5 y 6: Representaciones esquemáticas de diferentes versiones a modo de ejemplo de los CAR de múltiples cadenas de la presente invención (csm1 a csm10) que comprenden un polipéptido de VNAR extracelular fusionado con una región de tallo/bisagra de CD8 fusionada con el dominio transmembrana de la cadena alfa de Fc $\epsilon$ RI, mientras que al menos unos dominios zeta de 41BB, CD28 y/o CD3 coestimuladores están fusionados con las cadenas alfa, beta y/o bien gamma de Fc $\epsilon$ RI.

35 Figura 7: Representación esquemática de la estructura del CAR de una única cadena según la invención (SEQ ID NO. 110) tal como se describe en el ejemplo 1.

Figura 8: Representación esquemática de la estructura de un CAR de múltiples cadenas según la invención (SEQ ID NO. 105) tal como se describe en el ejemplo 1.

### Descripción detallada de la invención

40 A menos que se definan específicamente en el presente documento, todos los términos técnicos y científicos usados tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica en los campos de terapia génica, bioquímica, genética y biología molecular.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de la experiencia de la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la bibliografía. Véanse, por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology (Frederick M. AUSUBEL, 2000, Wiley and son Inc, Library of Congress, EE.UU.); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, tercera edición, (Sambrook *et al*, 2001, Cold Spring Harbor, Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed., 1984); Mullis *et al*. patente estadounidense n.º 4.683.195; Nucleic Acid Hybridization (B. D. Harries & S. J. Higgins eds. 1984); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); la serie, Methods In ENZYMOLOGY (J. Abelson y M. Simon, eds.-en-chief, Academic Press, Inc., Nueva York), específicamente, los volúmenes 154 y 155 (Wu *et al*. eds.) y el vol. 185, "Gene Expression Technology" (D. Goeddel, ed.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller y M. P. Calos

eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Mayer y Walquer, eds., Academic Press, Londres, 1987); *Handbook Of Experimental Immunology*, volúmenes I-IV (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds., 1986); y *Manipulating the Mouse Embryo*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986).

5 La presente invención se centra principalmente en un receptor de antígeno quimérico (CAR) caracterizado porque comprende:

i) un dominio de reconocimiento de antígeno extracelular que comprende un polipéptido de VNAR; y

ii) un polipéptido transmembrana que comprende al menos un dominio de transducción de señales;

10 los polipéptidos de VNAR son distintos de los dominios VH y VL de Ig típicos, así como de dominios VHH de camélidos, en particular al compartir homología estructural superior con dominios V de receptor de células T (TCR) y VL de inmunoglobulina que con VH de inmunoglobulina.

15 La característica más única de polipéptidos de VNAR es la ausencia de un bucle de CDR2 y de dos cadenas  $\beta$ , C' y C", asociadas con el mismo. En su lugar, se forma una "cinta" definida alrededor del medio de la estructura de sándwich  $\beta$  (Kovalenko *et al.*, 2013). Esta región muestra una elevada tasa de mutaciones somáticas y se ha denominado por tanto región hipervariable 2, HV2). Otra región de frecuencia de mutación aumentada se ubica entre HV2 y CDR3, que comprende un bucle que une las cadenas  $\beta$  D y E de manera similar a aquella en las cadenas V de TCR V; por tanto, esta región se denominó HV4. Estructuralmente, HV2 es la más proximal a CDR3, mientras que HV4 está en proximidad a CDR1. Varios tipos estructurales de dominios variables de IgNAR se han clasificado basándose en el número y la posición de residuos de cisteína extra en las CDR y regiones de marco (FW) además del par de cisteínas canónico (Cys-23/Cys-88 para VL, nomenclatura de Kabat) del pliegue de Ig. V-NAR de tipo I, encontrado en tiburones nodriza, tiene 2 cisteínas en CDR3 y 2 más en las regiones de marco (FW2 y FW4). El tipo II más común tiene un par de cisteínas extra que une CDR1 y CDR3. El tipo III, detectado principalmente en el desarrollo neonatal de tiburones, es similar al tipo II pero tiene un residuo de Trp conservado en CDR1 y diversidad de CDR3 limitada. Otro tipo estructural de V-NAR, que se ha denominado tipo IV, tiene 3 sólo dos residuos de cisteína canónicos. Hasta la fecha, este tipo se ha encontrado principalmente en tiburones cazón, y también se aisló de bibliotecas de V-NAR semisintéticas derivadas de tiburones alfombra. La naturaleza de un único dominio y la falta de CDR2 en V-NAR refuerza el requisito de CDR1 y CDR3 para proporcionar unión específica y de alta afinidad a antígenos prospectivos. CDR3, que es más variable en cuanto a secuencia, longitud y conformación, desempeña el papel clave en el reconocimiento de antígenos.

30 Además, el dominio de reconocimiento de antígeno del CAR según la invención comprende preferiblemente sólo dos regiones determinantes de complementariedad (CDR) denominadas CDR1 y CDR3, y más preferiblemente, dicho dominio de reconocimiento de antígeno tiene sólo una región determinante de complementariedad (CDR3).

35 En general, la especificidad de reconocimiento del CAR para dicho antígeno viene determinada por dicha CDR3. La mayoría de las veces, CDR3 explica más del 50%, y más generalmente más del 70% de la activación de células T (es decir, la afinidad sólo se reduce en un 50 o un 30% cuando se modifica o elimina CDR1). La activación de células T puede medirse por diferentes medios, en particular usando el método descrito por Betts *et al.* (2003).

40 Los polipéptidos de VNAR que tienen la ventaja de ser polipéptidos relativamente pequeños (12-13 kDa) demuestran la ventaja de alta estabilidad biofísica, solubilidad y capacidad de unión a una variedad de antígenos, incluyendo epítomos ubicados en hendiduras sobre superficies proteicas (por ejemplo sitios activos de enzimas) que no son accesibles para dominios variables de anticuerpos tradicionales.

Según una realización preferida de la invención, la región CDR3, que es a menudo larga de entre 10 y 25 residuos, pero preferiblemente entre 15 y 20, sobresale de la superficie de VNAR. Esta región CD3 comprende preferiblemente al menos dos residuos de cisteína que crean enlaces disulfuro con residuos del polipéptido de VNAR para obtener una superficie de reconocimiento más sobresaliente.

45 El término "dominio de reconocimiento de antígeno extracelular" tal como se usa en el presente documento se define como un oligo- o polipéptido que puede unirse a un ligando, más específicamente un antígeno. Preferiblemente, el dominio podrá interactuar con una molécula de la superficie celular. Por ejemplo, el dominio de unión a ligando extracelular puede elegirse para reconocer un ligando que actúa como marcador de superficie celular en células diana asociadas con un estado patológico particular. Por tanto, los ejemplos de marcadores de superficie celular que pueden actuar como ligandos incluyen los asociados con infecciones virales, bacterianas y parasitarias, enfermedad autoinmunitaria y células cancerosas. En particular, el dominio de unión a ligando extracelular puede comprender un dominio de unión a antígeno derivado de un anticuerpo contra un antígeno de la diana.

55 Como ejemplos no limitativos, el antígeno de la diana puede ser cualquier agrupación de moléculas de diferenciación (por ejemplo CD16, CD64, CD78, CD96, CLL1, CD116, CD117, CD71, CD45, CD71, CD123 y CD138), un antígeno de superficie asociado a tumor, tal como ErbB2 (HER2/neu), antígeno carcinoembrionario (CEA), molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), variante III de EGFR (EGFRvIII), CD19, CD20, CD30, CD40, disialogangliósido GD2, mucina ductal-epitelial, gp36,

5 TAG-72, glicosíngolipidos, antígeno asociado a glioma, gonadotropina coriónica humana  $\beta$ , alfafetoproteína (AFP), AFP reactiva con lectina, tiroglobulina, RAGE-1, MN-CA IX, transcriptasa inversa de telomerasa humana, RU1, RU2 (AS), carboxilo esterasa intestinal, mut hsp70-2, M-CSF, próstata, antígeno específico de próstata (PSA), PAP, NYESO-1, LAGA-1a, p53, prosteína, PSMA, supervivencia y telomerasa, antígeno de tumor de carcinoma de próstata-1 (PCTA-1), MAGE, ELF2M, elastasa de neutrófilos, efrina B2, CD22, factor de crecimiento de insulina (IGF1)-I, IGF-II, receptor de IGFI, mesotelina, una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) que presenta un epítipo peptídico específico de tumor, 5T4, ROR1, Nkp30, NKG2D, antígenos estromales tumorales, el dominio extra A (EDA) y dominio extra B (EDB) de fibronectina y el dominio A1 de tenascina-C (TnC A1) y proteína asociada a fibroblastos (fap); un antígeno específico de tejido o específico de linaje tal como CD3, CD4, CD8, CD24, 10 CD25, CD33, CD34, CD133, CD138, CTLA-4, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), GM-CSF, receptores de citocina, endoglina, una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), BCMA (CD269, TNFRSF 17), o un antígeno de superficie específico de virus tal como un antígeno específico de VIH (tal como gp120 de VIH); un antígeno específico de VEB, un antígeno específico de CMV, un antígeno específico de VPH, un antígeno específico de virus de Lassa, un antígeno específico de virus influenza así como cualquier derivado o variante de estos marcadores de superficie. Los antígenos no son necesariamente antígenos marcadores de superficie si no que pueden ser también antígenos pequeños endógenos presentados por HLA de clase I en la superficie de las células.

20 El dominio de unión a ligando extracelular puede comprender también un péptido que se une a un antígeno de la diana, un péptido o una proteína que se une a un anticuerpo que se une a un antígeno de la diana, un ligando de péptido o proteína tal como un factor de crecimiento, una citocina o una hormona como ejemplos no limitativos que se unen a un receptor sobre la diana, o un dominio derivado de un receptor tal como un receptor de factor de crecimiento, un receptor de citocina o un receptor de hormona como ejemplos no limitativos, que se unen a un ligando de péptido o proteína sobre la diana. Preferiblemente la diana es una célula, pero también puede ser un virus o un microorganismo. Según otro aspecto de la invención, los CAR según la invención pueden estar dirigidos a anticuerpos u otros CAR que comprenden cadenas de inmunoglobulina de Fc.

25 Los receptores de antígenos quiméricos según la presente invención presentan la ventaja de tener un dominio extracelular más pequeño que otros tipos de dominios de unión a ligando. En general el polipéptido de VNAR que forma este dominio extracelular es más corto de 150 aminoácidos, preferiblemente más corto de 140, más preferiblemente más corto de 130, incluso más preferiblemente más corto de 120 aminoácidos. En algunos casos, el polipéptido de VNAR puede ser de menos de 110 aminoácidos y algunas veces menos de 100 aminoácidos.

30 Los inventores han establecido que los CAR de dominios extracelulares más pequeños según la presente invención podrían ser particularmente eficaces para seleccionar como diana antígenos con una estructura hueca presentes en la superficie de las células, tales como polipéptidos implicados en una función de transporte. De hecho, las leucemias, como otros cánceres, soportan varias alteraciones genéticas de genes relacionados con tumores, tales como mutaciones puntuales, translocaciones, modificaciones epigenéticas, a menudo acompañadas por 35 amplificación o inactivación génica. La identificación de genes relacionados con tumores proporciona una comprensión considerable sobre la biología de las leucemias y abre el camino a tratamientos farmacológicos más específicos. Estos genes comprenden varios canales iónicos y bombas, ya que los mecanismos de transporte asociados con control del volumen, proliferación y apoptosis están a menudo alterados en los cánceres. En células leucémicas, tales cambios se observan de manera tan temprana como el estadio de célula madre. Los canales iónicos pueden regular otras características malignas, tales como falta de diferenciación, fenotipo invasivo y migratorio aumentado y quimiorresistencia. La resistencia a múltiples fármacos (MDR), mediada por múltiples transportadores de casete de unión a ATP (ABC) de flujo de salida de fármacos, es un problema crítico, particularmente en el tratamiento de leucemia aguda, mostrándose de manera sistemática que glicoproteína de permeabilidad (P) (P-gp), proteína asociada a resistencia a múltiples fármacos 1 (MRP1) y proteína de resistencia de 45 cáncer de mama (BCRP o ABCG2) son los factores clave de MDR en estudios con líneas celulares. Estudios han demostrado que puede surgir MDR intrínseca debido a perfiles de expresión génica específicos, y que la sobreexpresión inducida por fármacos de P-gp y otras proteínas de MDR puede dar como resultado resistencia adquirida, habiéndose mostrado que múltiples transportadores de ABC están sobreexpresados en líneas celulares seleccionadas para la resistencia a múltiples fármacos para leucemia aguda. Se ha encontrado que otros receptores 50 tales como receptores sigma ( $\sigma$ R)(S), concretamente  $\sigma$ R(1) y  $\sigma$ R(2), están sobreexpresados en células de cáncer de mama.

Por tanto, debido a su implicación en la génesis del cáncer y su sobreexpresión en esta patología, un aspecto de la presente invención sería seleccionar como diana tal tipo de bombas o poros de membrana usando el CAR de la presente invención para terapia inmunoadoptiva del cáncer.

55 La tabla 1 a continuación proporciona ejemplos de transportadores de ABC, que podrían seleccionarse como diana con el VNAR-CAR de la presente invención para el tratamiento de células malignas resistentes a quimioterapia.

Tabla 1: Transportadores de ABC implicados en la resistencia celular a la quimioterapia

Familia de ABC	Sustratos de quimioterapia	Cáncer relacionado
ABCA		
ABCA2	Estramustina y mitoxantrona	Líneas celulares de cáncer de pulmón y LMA
ABCA3	Antraciclinas	Neuroblastoma
ABCB		
ABCB1	Colchicina, antraciclinas, epipodofilotoxinas, alcaloides de la vinca, taxanos, camptotecinas, bisantreno, imatinib, mitoxantrona, saquinivir, metotrexato y actinomicina D	Líneas celulares de cáncer de pulmón y LMA
ABCB4	Antraciclinas, alcaloides de la vinca, taxanos, mitoxantrona, epipodofilotoxinas	
ABCB5	Antraciclinas, camptotecinas y tiopurinas	Melanoma
ABCB11	Taxanos	
ABCC		
ABCC1	Antraciclinas, mitoxantrona, alcaloides de la vinca, imatinib, epipodofilotoxinas, camptotecinas, mitoxantrona y saquinivir, metotrexato	Líneas de carcinoma de células escamosas, líneas de cáncer de pulmón, glioma y LMA
ABCC2	Metotrexato, epipodofilotoxinas, alcaloides de la vinca, cisplatino, taxanos, antraciclinas, mitoxantrona, saquinivir, camptotecinas	
ABCC3	Metotrexato, epipodofilotoxinas,	
ABCC4	Tiopurinas, PMEAs, metotrexato, AZT, camptotecinas	
ABCC5	Tiopurinas, PMEAs, metotrexato, AZT, cisplatino	
ABCC6	Antraciclinas, cisplatino, epipodofilotoxinas,	
ABCC10	Alcaloides de la vinca, cisplatino	
ABCC11	Tiopurinas	
ABCG		
ABCG2	Mitoxantrona, camptotecinas, antraciclinas, bisantreno imatinib, metotrexato, flavopiridol, epipodofilotoxinas,	Cáncer de pulmón, LMA, carcinoma esofágico, glioma, neuroblastoma, células escamosas, líneas celulares de carcinoma, melanoma, cáncer de ovarios y líneas celulares de carcinoma nasofaríngeo

Según una realización particular de la invención, varios polipéptidos de VNAR pueden unirse en tándem para proporcionar multiespecificidad, el aumento del tamaño del dominio extracelular o semivida *in vivo* de la molécula.

5 Según un aspecto adicional de la invención, el polipéptido de VNAR implicado en la construcción del CAR puede humanizarse con el fin de reducir la inmunogenicidad y/o mejorar las propiedades de estabilidad termodinámica, plegamiento y expresión. Se ha acumulado una experiencia considerable en esta área temática, particularmente con AcM de roedor. Normalmente, se injertan CDR de un anticuerpo murino de interés sobre una región de marco de línea germinal humana apropiada (seleccionada por similitud de secuencia, propiedades de expresión, o ambas) y luego se introducen retromutaciones en posiciones clave responsables de una conformación de CDR particular y por tanto de la unión al antígeno. Este enfoque ha producido muchos Ac humanizados, utilizándose varios de ellos en la práctica clínica. Aunque los VNAR de tiburón representan un desafío mayor para la humanización debido a las diferencias estructurales (por ejemplo, falta de CDR2) y la baja identidad de secuencia global (generalmente ~30%) con secuencias de VH/VL humanas, las estructuras cristalinas disponibles de dominios de VNAR demuestran una organización similar de regiones de marco clave a dominios variables de Ig humana, haciendo posible por tanto el intento de humanización (Kovelenko *et al.* 2013). Tal humanización puede conducir al reemplazo de hasta el 50% de la secuencia de aminoácidos global inicial del armazón de VNAR inicial usado como polipéptido de VNAR. Por consiguiente, la presente invención abarca el uso de polipéptidos de VNAR que tienen una identidad de aminoácidos relativamente baja con cualquier polipéptido de VNAR notificado que se origina a partir de pez cartilaginoso, aunque presentan preferiblemente al menos el 50%, más preferiblemente al menos el 75%, incluso más preferiblemente al menos el 80%, lo más preferiblemente al menos el 90% de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de polipéptido denominadas SEQ ID NO. 1 a 100 (tabla 2). Estas secuencias se proporcionan como ejemplos no limitativos del armazón de VNAR que pueden usarse y humanizarse según la invención.

Los receptores de antígenos quiméricos según la presente invención comprenden además generalmente una región de bisagra (tallo) entre su región transmembrana y el dominio de reconocimiento de antígeno extracelular.

25 El término "región de bisagra" usado en el presente documento significa generalmente cualquier oligo- o polipéptido que funciona uniendo el dominio transmembrana al dominio de unión a ligando extracelular. En particular, se usa

una región de tallo para proporcionar más flexibilidad y accesibilidad para el dominio de unión a ligando extracelular. Una región de tallo puede comprender hasta 300 aminoácidos, preferiblemente de 10 a 100 aminoácidos y lo más preferiblemente de 25 a 50 aminoácidos. La región de tallo puede derivarse en su totalidad o en parte de moléculas que se producen de manera natural, tales como en su totalidad o en parte de la región extracelular de CD8, CD4 o CD28, o en su totalidad o en parte de una región constante de anticuerpo. Alternativamente la región de tallo puede ser una secuencia sintética que corresponde a una secuencia de tallo que se produce de manera natural, o puede ser una secuencia de tallo completamente sintética. En una realización preferida dicha región de tallo es una parte de la cadena alfa de CD8 humana (por ejemplo NP\_001139345.1).

#### VNAR-CAR de múltiples cadenas

10 El ejemplo 1 y las figuras 3 y 7 de la presente memoria descriptiva ilustran receptores de antígenos quiméricos según la invención basados en un CAR de una única cadena, correspondientes a la arquitectura clásica de los CAR, en los que todos los dominios relevantes están contenidos dentro de un único polipéptido tal como se describe en el documento US 7.741.465.

15 Sin embargo, la presente invención abarca también arquitecturas de múltiples cadenas tal como se muestra en el ejemplo 2 y las figuras 4, 5 y 8. Según tales arquitecturas, se portan dominios de unión a ligando y dominios de señalización en polipéptidos diferenciados. Los diferentes polipéptidos están anclados en la membrana en una proximidad estrecha que permite interacciones entre sí. En tales arquitecturas, los dominios de señalización y coestimuladores pueden estar en posiciones en yuxtamembrana (es decir, adyacentes a la membrana celular en el lado interno de la misma), lo que se considera que permite una función mejorada de dominios coestimuladores. La arquitectura de múltiples subunidades también ofrece más flexibilidad y posibilidades de diseño de CAR con más control sobre la activación de células T. Por ejemplo, es posible incluir varios dominios de reconocimiento de antígenos extracelulares que tienen especificidad diferente para obtener una arquitectura de CAR multiespecífica. También es posible controlar la razón relativa entre las diferentes subunidades en el CAR de múltiples cadenas. Este tipo de arquitectura la ha descrito recientemente el solicitante en el documento PCT/US2013/058005.

25 El ensamblaje de las diferentes cadenas como parte de un único CAR de múltiples cadenas se hace posible, por ejemplo, usando las diferentes cadenas alfa, beta y gamma del receptor de alta afinidad para IgE (FcεRI) (Metzger, Alcaraz *et al.* 1986) a las que se fusionan los dominios de señalización y coestimuladores. La cadena gamma comprende una región transmembrana y una cola citoplasmática que contienen un motivo de activación basado en tirosina inmunorreceptora (ITAM) (Cambier 1995).

30 Los CAR de múltiples cadenas pueden comprender varios dominios de unión a ligando extracelulares, para unirse simultáneamente a diferentes elementos en la diana aumentando de ese modo la activación y función de células inmunitarias. En una realización, los dominios de unión a ligando extracelulares pueden colocarse en tándem sobre el mismo polipéptido transmembrana, y opcionalmente pueden estar separados por un ligador. En otra realización, dichos dominios de unión a ligando extracelulares diferentes pueden colocarse en diferentes polipéptidos transmembrana que componen el CAR de múltiples cadenas. En otra realización, la presente divulgación se refiere a una población de CAR de múltiples cadenas que comprenden cada uno diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. Se da a conocer además un método de modificación por ingeniería genética de células inmunitarias que comprende proporcionar una célula inmunitaria y expresar en la superficie de dicha célula una población de CAR de múltiples cadenas comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelulares diferentes. La presente divulgación se refiere además a un método de modificación por ingeniería genética de una célula inmunitaria que comprende proporcionar una célula inmunitaria e introducir en dicha célula polinucleótidos que codifican para polipéptidos que componen una población de CAR de múltiples cadenas comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelulares diferentes. En un ejemplo particular, el método de modificación por ingeniería genética de una célula inmunitaria comprende expresar en la superficie de la célula al menos una parte de la cadena beta y/o gamma de FcεRI fusionada a un dominio de transducción de señales y varias partes de las cadenas alfa de FcεRI fusionadas a dominios de unión a ligando extracelulares diferentes. En un ejemplo más particular, dicho método comprende introducir en dicha célula al menos un polinucleótido que codifica para una parte de la cadena beta y/o gamma de FcεRI fusionada a un dominio de transducción de señales y varias cadenas alfa de FcεRI fusionadas a dominios de unión a ligando extracelulares diferentes. Por población de CAR de múltiples cadenas, quiere decirse al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis o más CAR de múltiples cadenas comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelulares diferentes. Los dominios de unión a ligando extracelulares diferentes según la presente invención pueden unirse de manera preferiblemente simultánea a diferentes elementos en la diana aumentando de ese modo la activación y función de células inmunitarias.

55 El dominio de transducción de señales o dominio de señalización intracelular del CAR de múltiples cadenas de la invención es responsable de la señalización intracelular tras la unión del dominio de unión a ligando extracelular a la diana que da como resultado la activación de la célula inmunitaria y la respuesta inmunitaria. En otras palabras, el dominio de transducción de señales es responsable de la activación de al menos una de las funciones efectoras normales de la célula inmunitaria en la que se expresa el CAR de múltiples cadenas. Por ejemplo, la función efectora de una célula T puede ser una actividad citolítica o actividad auxiliar incluyendo la secreción de citocinas.

60 En la presente solicitud, el término “dominio de transducción de señales” se refiere a la porción de una proteína que

transduce la señal de función de señal efectora y dirige a la célula a realizar una función especializada.

Ejemplos preferidos de dominio de transducción de señales para su uso en CAR de una única cadena o de múltiples cadenas pueden ser las secuencias citoplasmáticas del receptor de Fc o el receptor de células T y correceptores que actúan conjuntamente para iniciar la transducción de señales tras el acoplamiento al receptor de antígeno, así como cualquier derivado o variante de estas secuencias y cualquier secuencia sintética que tiene la misma capacidad funcional. El dominio de transducción de señales comprende dos clases distintas de secuencia de señalización citoplasmática, las que inician la activación primaria dependiente de antígeno, y las que actúan de una manera independiente de antígeno para proporcionar una señal secundaria o coestimuladora. La secuencia de señalización citoplasmática primaria puede comprender motivos de señalización que se conocen como motivos de activación basados en tirosina inmunorreceptora de ITAM. Los ITAM son motivos de señalización bien definidos que se encuentran en la cola intracitoplasmática de una variedad de receptores que sirven como sitios de unión para tirosina cinasas de la clase syk/zap70. Los ejemplos de ITAM usados en la invención pueden incluir como ejemplos no limitativos los derivados de TCRzeta, FcRgamma, FcRbeta, FcRépsilon, CD3gamma, CD3delta, CD3épsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b y CD66d. En una realización preferida, el dominio de transducción de señalización del CAR de múltiples cadenas puede comprender el dominio de señalización de CD3zeta, o el dominio intracitoplasmático de las cadenas beta o gamma de FcεRI.

En una realización particular el dominio de transducción de señales del CAR de múltiples cadenas de la presente invención comprende una molécula señal coestimuladora. Una molécula coestimuladora es una molécula de superficie celular distinta de un receptor de antígeno o sus ligandos que se requiere para lograr una respuesta inmunitaria eficaz.

“Ligando coestimulador” se refiere a una molécula sobre una célula presentadora de antígeno que se une específicamente a una molécula coestimuladora relacionada sobre una célula T, proporcionando de ese modo una señal que, además de la señal primaria proporcionada por, por ejemplo, la unión de un complejo de TCR/CD3 con una molécula del CMH cargada con péptido, media en una respuesta de células T, incluyendo, pero sin limitarse a, activación de la proliferación, diferenciación y similares. Un ligando coestimulador puede incluir pero no se limita a CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, ligando coestimulador inducible (ICOS-L), molécula de adhesión intercelular (ICAM, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, M1CB, HVEM, receptor de linfotóxina beta, 3/TR6, ILT3, ILT4, un agonista o anticuerpo que se une a receptor de ligando Toll y un ligando que se une específicamente a B7-H3. Un ligando coestimulador también abarca, entre otros, un anticuerpo que se une específicamente a una molécula coestimuladora presente sobre una célula T, tal como pero sin limitarse a, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno asociado a función de linfocitos-1 (LFA-1), CD2, CD7, LTGHT, NKG2C, B7-H3, un ligando que se une específicamente a CD83.

Una “molécula coestimuladora” se refiere a la pareja de unión relacionada sobre una célula T que se une específicamente a un ligando coestimulador, mediando de ese modo en una respuesta coestimuladora por la célula, tal como, pero sin limitarse a proliferación. Las moléculas coestimuladoras incluyen, pero no se limitan a una molécula de CMH de clase I, BTLA y receptor de ligando Toll. Los ejemplos de moléculas coestimuladoras incluyen CD27, CD28, CD8, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno asociado a función de linfocitos-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 y un ligando que se une específicamente a CD83 y similares.

Una “señal coestimuladora” tal como se usa en el presente documento se refiere a una señal que, en combinación con una señal primaria, tal como ligación de TCR/CD3, conduce a proliferación de células T y/o regulación por incremento o regulación por disminución de moléculas clave.

En otra realización particular, dicho dominio de transducción de señales son motivos de unión a factor 2 asociado a TNFR (TRAF2), cola intracitoplasmática de la familia de miembros de TNFR coestimuladores. La cola citoplasmática de miembros de la familia de TNFR coestimuladores contiene motivos de unión a TRAF2 que consisten en el motivo conservado principal (P/S/A)X(Q/E)E) o el motivo secundario (P/XQXXD), en los que X es cualquier aminoácido. Las proteínas TRAF se reclutan a las colas intracelulares de muchos TNFR en respuesta a la trimerización del receptor. En una realización preferida, el dominio de transducción de señales del CAR de múltiples cadenas de la presente invención comprende una parte de la molécula señal coestimuladora seleccionada del grupo que consiste en 4-1BB (GenBank: AAA53133.) y CD28 (NP\_006130.1).

Las características distintivas de polipéptidos transmembrana apropiados comprenden la capacidad de expresarse en la superficie de una célula inmunitaria, en particular células de linfocitos o células citolíticas naturales (NK), y de interactuar entre sí para dirigir la respuesta celular de la célula inmunitaria contra una célula diana predefinida. Los diferentes polipéptidos transmembrana del CAR de múltiples cadenas de la presente invención que comprenden un dominio de unión a ligando extracelular y/o un dominio de transducción de señales interactúan entre sí para tomar parte en la transducción de señales tras la unión con un ligando diana e inducen una respuesta inmunitaria. El dominio transmembrana puede derivarse o bien de una fuente natural o bien de una fuente sintética. Como ejemplos no limitativos, el polipéptido transmembrana puede ser una subunidad del receptor de células T tal como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  o  $\delta$ , un polipéptido que constituye un complejo de CD3, receptor de IL2 p55 (cadena  $\alpha$ ), p75 (cadena  $\beta$ ) o cadena  $\gamma$ , una cadena de subunidad de receptores de Fc, en particular receptor de Fc $\gamma$  III o proteínas CD. Alternativamente el



dominio transmembrana puede ser sintético y puede comprender predominantemente residuos hidrófobos tales como leucina y valina.

En una realización preferida, el polipéptido transmembrana derivado de las cadenas del receptor de Fc $\epsilon$  o variante del mismo, en particular comprende las cadenas  $\alpha$ ,  $\beta$  y/o  $\gamma$  de Fc $\epsilon$ RI o un fragmento funcional o variante de las mismas. El término “derivado de” significa un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es equivalente a la de un receptor de Fc $\epsilon$  que incluye una o más modificaciones de aminoácidos de la secuencia del receptor de Fc $\epsilon$ . Tal(es) modificación/modificaciones de aminoácidos puede(n) incluir sustitución/sustituciones, delección/delecciones, adición/adiciones de aminoácidos o una combinación de cualquiera de esas modificaciones, y puede(n) alterar la actividad biológica de la región de unión a Fc en relación con la de un receptor de Fc. Por otro lado, las regiones de unión a Fc derivadas de un receptor de Fc particular pueden incluir una o más modificación/modificaciones de aminoácidos que no alteran sustancialmente la actividad biológica de la región de unión a Fc en relación con la de un receptor de Fc. La(s) modificación/modificaciones de aminoácidos de esta clase comprenderá(n) normalmente sustitución/sustituciones de aminoácidos conservativa(s).

En una realización más particular, dicho CAR de múltiples cadenas puede comprender una parte de la cadena alfa de Fc $\epsilon$ RI y una parte de la cadena beta de Fc $\epsilon$ RI o una variante de las mismas de manera que dichas cadenas de Fc $\epsilon$ RI se dimerizan espontáneamente entre sí formando un receptor de antígeno quimérico dimérico. En otra realización, el antígeno quimérico de múltiples cadenas puede comprender una parte de la cadena alfa de Fc $\epsilon$ RI y una parte de la cadena gamma de Fc $\epsilon$ RI o variante de las mismas de manera que dichas cadenas de Fc $\epsilon$ RI se trimerizan espontáneamente entre sí formando un receptor de antígeno quimérico trimérico, y en otra realización el receptor de antígeno quimérico de múltiples cadenas puede comprender una parte de la cadena alfa de Fc $\epsilon$ RI, una parte de la cadena beta de Fc $\epsilon$ RI y una parte de la cadena gamma de Fc $\epsilon$ RI o variantes de las mismas de manera que dichas cadenas de Fc $\epsilon$ RI se tetramerizan espontáneamente entre sí formando un receptor de antígeno quimérico tetramérico.

En otras palabras, el CAR de múltiples cadenas que comprende al menos dos de los siguientes componentes:

a) un polipéptido que comprende una parte de la cadena alfa de Fc $\epsilon$ RI y un dominio de unión a ligando extracelular,

b) un polipéptido que comprende una parte de la cadena beta de Fc $\epsilon$ RI y/o

c) un polipéptido que comprende una parte de la cadena gamma de Fc $\epsilon$ RI, mediante lo cual diferentes polipéptidos se multimerizan entre sí espontáneamente formando CAR dimérico, trimérico o tetramérico.

El término “fragmento funcional” usado en el presente documento se refiere a cualquier subconjunto de una proteína, que conserva al menos el 50% de la actividad de la proteína completa. Alternativamente, el término “variantes funcionales” se refiere a un polipéptido que puede incluir, por ejemplo, delecciones o inserciones o sustituciones de aminoácidos con respecto a una proteína inicial, al tiempo que conserva al menos el 50% de la actividad de dicha proteína inicial. Tales variantes funcionales pueden prepararse mediante mutaciones en el ADN que codifica para el polipéptido.

La funcionalidad de los CAR de la invención con respecto a un antígeno deseado puede someterse a ensayo tras la unión a células Daudi que expresan dicho antígeno sobre su superficie tal como se describe en la parte experimental. Están disponibles otros ensayos conocidos en la técnica que implican la medición del aumento de la liberación de iones de calcio, la fosforilación de tirosina intracelular, el recambio de fosfato de inositol o la producción de interleucina (IL) 2, interferón  $\gamma$ , GM-CSF, IL-3, IL-4 por las células seleccionadas como diana.

#### Polinucleótidos, vectores:

En una realización particular, las diferentes secuencias de ácido nucleico pueden incluirse en un polinucleótido o vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para una secuencia de salto ribosómico tal como una secuencia que codifica para un péptido 2A. Los péptidos 2A, que se identificaron en el subgrupo de Aphthovirus de los picornavirus, provocan un “salto” ribosómico desde un codón hasta el siguiente sin la formación de un enlace peptídico entre los dos aminoácidos codificados por los codones (véase Donnelly *et al.*, J. of General Virology 82: 1013-1025 (2001); Donnelly *et al.*, J. of Gen. Virology 78: 13-21 (1997); Doronina *et al.*, Mol. Y. Cell. Biology 28(13): 4227-4239 (2008); Atkins *et al.*, RNA 13: 803-810 (2007)). Por tanto, pueden sintetizarse dos polipéptidos a partir de un único marco de lectura abierto contiguo dentro de un ARNm cuando los polipéptidos están separados por una secuencia de oligopéptido 2A que está en marco. Tales mecanismos de salto ribosómico se conocen bien en la técnica y se sabe que los usan varios vectores para la expresión de varias proteínas codificadas por un único ARN mensajero. Como ejemplo no limitativo, se han usado péptidos 2A para expresar en la célula los diferentes polipéptidos del CAR de múltiples cadenas.

Para dirigir el polipéptido transmembrana tal como Fc $\epsilon$ R a la ruta secretora de una célula huésped, se proporciona una secuencia de señal secretora (también conocida como secuencia líder, preprosecuencia o prosecuencia) en la secuencia de polinucleótido o secuencia de vector. La secuencia de señal secretora puede ser la de Fc $\epsilon$ R, o puede derivarse de otra proteína secretada (por ejemplo, t-PA) o sintetizarse *de novo*. La secuencia de señal secretora está

operativamente unida a la secuencia transmembrana de ácido nucleico, es decir, las dos secuencias se unen en el marco de lectura correcto y se sitúan para dirigir el polipéptido recién sintetizado a la ruta secretora de la célula huésped. Las secuencias de señal secretora están situadas comúnmente en 5' con respecto a la secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido de interés, aunque determinadas secuencias de señal secretora puede situarse en cualquier lugar en la secuencia de ácido nucleico de interés (véase, por ejemplo, Welch *et al.*, patente estadounidense n.º 5.037.743; Holland *et al.*, patente estadounidense n.º 5.143.830). En una realización preferida el péptido señal comprende los residuos 1 a 25 de la cadena alfa de FcεRI (NP\_001992.1).

Los expertos en la técnica reconocerán que, en vista de la degeneración del código genético, es posible una considerable variación de secuencia entre estas moléculas de polinucleótido. Preferiblemente, las secuencias de ácido nucleico tienen codones optimizados para su expresión en células de mamífero, preferiblemente para su expresión en células humanas. La optimización de codones se refiere al intercambio en una secuencia de interés de codones que son generalmente poco comunes en genes altamente expresados de una especie dada por codones que son generalmente frecuentes en genes altamente expresados de tal especie, codificando tales codones para los aminoácidos como los codones que están intercambiándose.

Los polipéptidos pueden sintetizarse *in situ* en la célula como resultado de la introducción de polinucleótidos que codifican para dichos polipéptidos en la célula. Alternativamente, dichos polipéptidos podrían producirse fuera de la célula y luego introducirse en la misma. Se conocen en la técnica métodos para introducir un constructo de polinucleótido en células animales e incluyen como ejemplos no limitativos métodos de transformación estable en los que el constructo de polinucleótido se integra en el genoma de la célula, métodos de transformación transitoria en los que el constructo de polinucleótido no se integra en el genoma de la célula y métodos mediados por virus. Dichos polinucleótidos pueden introducirse en una célula mediante, por ejemplo, vectores virales recombinantes (por ejemplo retrovirus, adenovirus), liposomas y similares. Por ejemplo, los métodos de transformación transitoria incluyen por ejemplo microinyección, electroporación o bombardeo de partículas. Dichos polinucleótidos pueden incluirse en vectores, más particularmente plásmidos o virus, en vista de expresarse en células.

#### 25 Células T modificadas y modificadas por ingeniería genética

La presente invención también se refiere a células inmunitarias aisladas susceptibles de obtenerse mediante dicho método para modificar células por ingeniería genética. En particular dicha célula inmunitaria aislada comprende al menos un CAR de múltiples cadenas tal como se describió anteriormente. En otra realización, dicha célula inmunitaria aislada comprende una población de CAR de múltiples cadenas cada uno de los cuales comprende diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. En particular, dicha célula inmunitaria aislada comprende secuencias de polinucleótido exógenas que codifican para polipéptidos que componen al menos un CAR de múltiples cadenas. Dichas células también pueden comprender además al menos un gen inactivado seleccionado del grupo que consiste en CD52, GR, TCR alfa, TCR beta, gen de HLA, genes de punto de comprobación inmunitario tales como PD1 y CTLA-4, o pueden expresar un transgén de pTalfa.

Dicha célula inmunitaria se refiere a una célula de origen hematopoyético implicada funcionalmente en el inicio y/o la ejecución de respuesta inmunitaria innata y/o adaptativa. Dicha célula inmunitaria según la presente invención puede derivarse de una célula madre. Las células madre pueden ser células madre adultas, células madre embrionarias, más particularmente células madre no humanas, células madre de sangre de cordón umbilical, células progenitoras, células madre de médula ósea, células madre pluripotentes inducidas, células madre totipotentes o células madre hematopoyéticas. Células humanas representativas son células CD34+. Dicha célula aislada puede ser también una célula dendrítica, célula dendrítica citotóxica, un mastocito, una célula NK, una célula B o una célula T seleccionada del grupo que consiste en linfocitos T inflamatorios, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T reguladores o linfocitos T auxiliares. En otra realización, dicha célula puede derivarse del grupo que consiste en linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. Antes de la expansión y modificación genética de las células de la invención, puede obtenerse una fuente de células de un sujeto a través de una variedad de métodos no limitativos. Pueden obtenerse células de varias fuentes no limitativas, incluyendo células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de ganglios linfáticos, sangre de cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, efusión pleural, tejido del bazo y tumores. En determinadas realizaciones de la presente invención, puede usarse cualquiera de varias líneas de células T disponibles y conocidas por los expertos en la técnica. En otra realización, dicha célula puede derivarse de un donante sano, de un paciente al que se le ha diagnosticado cáncer o de un paciente al que se le ha diagnosticado una infección. En otra realización, dicha célula es parte de una población mixta de células que presentan diferentes características fenotípicas. En el alcance de la presente invención también se abarca una línea celular obtenida a partir de una célula T transformada según el método previamente descrito. Células modificadas resistentes a un tratamiento inmunosupresor y susceptibles a obtenerse mediante el método previo se abarcan en el alcance de la presente invención.

En otra realización, dicha célula aislada según la presente invención comprende un gen inactivado seleccionado del grupo que consiste en CD52, GR, PD1, CTLA-4, LAG3, Tim3, BTLA, BY55, TIGIT, B7H5, LAIR1, SIGLEC10, 2B4, HLA, TCR alfa y TCR beta y/o expresa un transgén de CAR, de CAR de múltiples cadenas y/o de pTalfa. En otra realización particular, dicha célula aislada comprende polinucleótidos que codifican para dichos polipéptidos que componen el CAR de la invención tal como se describió anteriormente.

En otra realización, dicha célula aislada según la presente invención comprende dos genes inactivados seleccionados del grupo que consiste en CD52 y GR, CD52 y TCR alfa, CDR52 y TCR beta, GR y TCR alfa, GR y TCR beta, TCR alfa y TCR beta, PD1 y TCR alfa, PD1 y TCR beta, CTLA-4 y TCR alfa, CTLA- 4 y TCR beta, LAG3 y TCR alfa, LAG3 y TCR beta, Tim3 y TCR alfa, Tim3 y TCR beta, BTLA y TCR alfa, BTLA y TCR beta, BY55 y TCR alfa, BY55 y TCR beta, TIGIT y TCR alfa, TIGIT y TCR beta, B7H5 y TCR alfa, B7H5 y TCR beta, LAIR1 y TCR alfa, LAIR1 y TCR beta, SIGLEC10 y TCR alfa, SIGLEC10 y TCR beta, 2B4 y TCR alfa, 2B4 y TCR beta y/o expresa un transgén de CAR, de CAR de múltiples cadenas y/o de pTalfa.

En una realización adicional, TCR se vuelve no funcional en las células según la invención inactivando el gen de TCR alfa y/o el/los gen(es) de TCR beta. Las estrategias anteriores se usan más particularmente para evitar GvHD. En un aspecto particular de la presente divulgación es un método para obtener células modificadas derivadas de un individuo, en el que dichas células pueden proliferar independientemente de la ruta de señalización del complejo mayor de histocompatibilidad. Dicho método comprende las siguientes etapas:

(a) recuperar células de dicho individuo;

(b) modificar genéticamente dichas células *ex vivo* inactivando los genes de TCR alfa o TCR beta;

(c) cultivar células T modificadas genéticamente *in vitro* en condiciones apropiadas para amplificar dichas células.

En el alcance de la presente invención se abarcan células modificadas, que pueden proliferar independientemente de la ruta de señalización del complejo mayor de histocompatibilidad, susceptibles de obtenerse mediante este método. Dichas células modificadas son para su uso en el tratamiento de pacientes que lo necesitan frente al rechazo de huésped contra injerto (HvG) y enfermedad de injerto contra huésped (GvHD); por tanto se da a conocer en el presente documento un método de tratamiento de pacientes que lo necesitan frente a rechazo de huésped contra injerto (HvG) y enfermedad de injerto contra huésped (GvHD) que comprende tratar a dicho paciente administrando a dicho paciente una cantidad eficaz de células modificadas que comprenden genes de TCR alfa y/o TCR beta inactivados.

- Células T resistentes inmunosupresoras:

En un aspecto particular, una de las etapas de modificación genética de células puede ser un método que comprende:

(a) modificar células T inactivando al menos un gen que expresa una diana para un agente inmunosupresor, y

(b) expandir dichas células, opcionalmente en presencia de dicho agente inmunosupresor.

Un agente inmunosupresor es un agente que suprime la función inmunitaria mediante uno de varios mecanismos de acción. En otras palabras, un agente inmunosupresor es un papel desempeñado por un compuesto que se presenta mediante una capacidad de disminuir el grado y/o la voracidad de una respuesta inmunitaria. Como ejemplo no limitativo, un agente inmunosupresor puede ser un inhibidor de calcineurina, una diana de rapamicina, un bloqueante de cadena  $\alpha$  de interleucina-2, un inhibidor de inosina monofosfato deshidrogenasa, un inhibidor de ácido dihidrofólico reductasa, un corticosteroide o un antimetabolito inmunosupresor. Los inmunosupresores citotóxicos clásicos actúan inhibiendo la síntesis de ADN. Otros pueden actuar a través de la activación de células T o inhibiendo la activación de células auxiliares. El método dado a conocer en el presente documento permite conferir resistencia inmunosupresora a células T para inmunoterapia inactivando la diana del agente inmunosupresor en células T. Como ejemplos no limitativos, las dianas para un agente inmunosupresor pueden ser un receptor para un agente inmunosupresor tal como: CD52, receptor de glucocorticoides (GR), un miembro de gen de la familia de FKBP y un miembro de gen de la familia de ciclofilina.

Al inactivar un gen se pretende que el gen interés no se exprese en una forma de proteína funcional. En un ejemplo particular, la modificación genética del método se basa en la expresión, en células proporcionadas para su modificación por ingeniería genética, de una endonucleasa de corte poco común de manera que dicha endonucleasa de corte poco común cataliza específicamente la escisión en un gen seleccionado como diana inactivando de ese modo dicho gen seleccionado como diana. En un ejemplo particular, dicho método para modificar células por ingeniería genética comprende al menos una de las siguientes etapas:

(a) proporcionar una célula T, preferiblemente a partir de un cultivo celular o a partir de una muestra de sangre;

(b) seleccionar un gen en dicha célula T que expresa una diana para un agente inmunosupresor;

(c) introducir en dicha célula T una endonucleasa de corte poco común que puede inactivar selectivamente mediante escisión de ADN, preferiblemente mediante rotura de la doble hebra dicho gen que codifica para una diana para dicho agente inmunosupresor, y

(d) expandir dichas células, opcionalmente en presencia de dicho agente inmunosupresor.

En un ejemplo más preferido, dicho método comprende:

(a) proporcionar una célula T, preferiblemente a partir de un cultivo celular o a partir de una muestra de sangre;

(b) seleccionar un gen en dicha célula T que expresa una diana para un agente inmunosupresor;

5 (c) transformar dicha célula T con ácido nucleico que codifica para una endonucleasa de corte poco común que puede inactivar selectivamente mediante escisión de ADN, preferiblemente mediante rotura de la doble hebra dicho gen que codifica para una dicha para dicho agente inmunosupresor, y

(d) expresar dichas endonucleasas de corte poco común en dichas células T;

(e) expandir dichas células, opcionalmente en presencia de dicho agente inmunosupresor.

10 En un ejemplo particular, dicha endonucleasa de corte poco común selecciona como diana específicamente un gen seleccionado del grupo que consiste en CD52, GR. En otra realización, dicho gen de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es CD52 y el tratamiento inmunosupresor de la etapa (d) o (e) comprende un anticuerpo humanizado que selecciona como diana el antígeno CD52.

En otro ejemplo, dicho gen de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es un receptor de glucocorticoides (GR) y el tratamiento inmunosupresor de la etapa d) o (e) comprende un corticosteroide tal como dexametasona.

15 En otro ejemplo, dicho gen diana de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es un miembro de gen de la familia de FKBP o una variante del mismo y el tratamiento inmunosupresor de la etapa (d) o (e) comprende FK506 también conocido como tacrolimus o fujimicina. En otra realización, dicho miembro de gen de la familia de FKBP es FKBP12 o una variante del mismo.

20 En otro ejemplo, dicho gen de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es un miembro de gen de la familia de ciclofilina o una variante del mismo y el tratamiento inmunosupresor de la etapa (d) o (e) comprende ciclosporina.

*- Células T altamente activas para inmunoterapia*

En un aspecto particular, una etapa particular de modificación por ingeniería genética de una célula puede ser un método que comprende:

25 (a) modificar células T inactivando al menos un gen de punto de comprobación inmunitaria; y

(b) expandir dichas células.

30 La inmunidad mediada por células T incluye múltiples etapas secuenciales que implican la selección clonal de células específicas de antígeno, su activación y proliferación en tejido linfóide secundario, su transporte a sitios de antígeno e inflamación, la ejecución de la función efectora directa y la provisión de ayuda (a través de citocinas y ligandos de membrana) para una multitud de células inmunitarias efectoras. Cada una de estas etapas se regula compensando señales estimuladoras e inhibitoras que ajustan de manera fina la respuesta. Los expertos habituales en la técnica entenderán que el término "puntos de comprobación inmunitaria" significa un grupo de moléculas expresadas por células T. Estas moléculas sirven eficazmente como "frenos" para modular por disminución o inhibir una respuesta inmunitaria. Las moléculas de punto de comprobación inmunitaria incluyen, pero no se limitan a

35 muerte programada 1 (PD-1, también conocida como PDCD1 o CD279, número de registro: NM\_005018), antígeno de linfocitos T citotóxicos 4 (CTLA-4, también conocido como CD152, número de registro de GenBank AF414120.1), LAG3 (también conocida como CD223, número de registro: NM\_002286.5), Tim3 (también conocida como HAVCR2, número de registro de GenBank: JX049979.1), BTLA (también conocida como CD272, número de registro: NM\_181780.3), BY55 (también conocida como CD160, número de registro de GenBank: CR541888.1), TIGIT (también conocida como VSTM3, número de registro: NM\_173799), B7H5 (también conocida C10orf54, homólogo del gen vista de ratón, número de registro: NM\_022153.1), LAIR1 (también conocida como CD305, número de registro de GenBank: CR542051.1), SIGLEC10 (número de registro de GeneBank: AY358337.1), 2B4 (también conocido como CD244, número de registro: NM\_001166664.1), que inhiben directamente células inmunitarias. Por ejemplo, CTLA-4 es una proteína de superficie celular expresada en determinadas células T CD4 y CD8; cuando se

45 acopla con sus ligandos (B7-1 y B7-2) en células presentadoras de antígenos, se inhiben la activación de células T y la función efectora. Por tanto, se da a conocer en el presente documento un método de modificación por ingeniería genética de células T, especialmente para inmunoterapia, que comprende modificar genéticamente células T inactivando al menos una proteína implicada en el punto de comprobación inmunitaria, en particular PD1 y/o CTLA-4.

50 Dicho método para modificar células por ingeniería genética puede comprender al menos una de las siguientes etapas:

(a) proporcionar una célula T, preferiblemente a partir de un cultivo celular o a partir de una muestra de sangre;

(b) introducir en dicha célula T una endonucleasa de corte poco común que puede inactivar selectivamente mediante

escisión de ADN, preferiblemente mediante rotura de la doble hebra un gen que codifica para una proteína de punto de comprobación inmunitaria,

(c) expandir dichas células.

Más específicamente, dicho método puede comprender:

5 (a) proporcionar una célula T, preferiblemente a partir de un cultivo celular o a partir de una muestra de sangre;

(b) transformar dicha célula T con ácido nucleico que codifica para una endonucleasa de corte poco común que puede inactivar selectivamente mediante escisión de ADN, preferiblemente mediante rotura de la doble hebra un gen que codifica para una proteína de punto de comprobación inmunitaria;

(c) expresar dichas endonucleasas de corte poco común en dichas células T;

10 (d) expandir dichas células.

Particularmente, dicha endonucleasa de corte poco común selecciona como diana específicamente un gen seleccionado del grupo que consiste en: PD1, CTLA-4, LAG3, Tim3, BTLA, BY55, TIGIT, B7H5, LAIR1, SIGLEC10, 2B4, TCR alfa y TCR beta. En otra realización, dicha endonucleasa de corte poco común puede ser una meganucleasa, una nucleasa de dedos de zinc, una TALE-nucleasa o complejo de endonucleasa CAS9/CRISPR. En una realización preferida, dicha endonucleasa de corte poco común es una TALE-nucleasa. Por TALE-nucleasa está previsto una proteína de fusión que consiste en un dominio de unión a ADN derivado de un efector de tipo activador de la transcripción (TALE) y un dominio catalítico de nucleasa para escindir una secuencia diana de ácido nucleico. (Boch, Scholze *et al.* 2009; Moscou y Bogdanove 2009; Christian, Cermak *et al.* 2010; Cermak, Doyle *et al.* 2011; Geissler, Scholze *et al.* 2011; Huang, Xiao *et al.* 2011; Li, Huang *et al.* 2011; Mahfouz, Li *et al.* 2011; Miller, Tan *et al.* 2011; Morbitzer, Romer *et al.* 2011; Mussolino, Morbitzer *et al.* 2011; Sander, Cade *et al.* 2011; Tesson, Usal *et al.* 2011; Weber, Gruetzner *et al.* 2011; Zhang, Cong *et al.* 2011; Deng, Yan *et al.* 2012; Li, Piatek *et al.* 2012; Mahfouz, Li *et al.* 2012; Mak, Bradley *et al.* 2012).

- Células T no alorreactivas:

25 En otra realización, la presente invención puede ser particularmente adecuada para inmunoterapia alogénica. En este caso, una de las etapas de modificación genética de células puede ser un método que comprende:

(a) modificar células T inactivando al menos un gen que codifica para un componente del receptor de células T (TCR)

(b) expandir dichas células.

30 Particularmente, la modificación genética del método se basa en la expresión, en células proporcionadas para su modificación por ingeniería genética, de una endonucleasa de corte poco común de manera que dicha endonucleasa de corte poco común cataliza específicamente la escisión en un gen seleccionado como diana inactivando de ese modo dicho gen seleccionado como diana. En un ejemplo particular, dicho método para modificar células por ingeniería genética comprende al menos una de las siguientes etapas:

35 (a) proporcionar una célula T, preferiblemente a partir de un cultivo celular o a partir de una muestra de sangre; introducir en dicha célula T una endonucleasa de corte poco común que puede inactivar selectivamente mediante escisión de ADN, preferiblemente mediante rotura de la doble hebra al menos un gen que codifica para un componente del receptor de células T (TCR).

(b) expandir dichas células.

En un ejemplo más preferido, dicho método comprende:

40 (a) proporcionar una célula T, preferiblemente a partir de un cultivo celular o a partir de una muestra de sangre;

(b) transformar dicha célula T con ácido nucleico que codifica para una endonucleasa de corte poco común que puede inactivar selectivamente mediante escisión de ADN, preferiblemente mediante rotura de la doble hebra al menos un gen que codifica para un componente del receptor de células T (TCR);

(c) expresar dichas endonucleasas de corte poco común en dichas células T;

45 (d) clasificar las células T transformadas, que no expresan TCR en su superficie celular;

(e) expandir dichas células.

Con el fin de modificar por ingeniería genética células inmunitarias modificadas altamente activas, la divulgación también proporciona métodos en los que se bloquean puntos de comprobación inmunitaria mediante la falta de expresión de genes tales como PD1 y CTLA-4.

La presente solicitud da a conocer además células inmunitarias modificadas por ingeniería genética en células T particulares para su uso como medicamento, más particularmente, para tratar o prevenir cáncer administrando tales células inmunitarias a un organismo vivo.

5 Las células T para su uso en inmunoterapia adoptiva según la presente invención pueden generarse o bien mediante expansión de células T específicas de antígeno o bien redirección de células T a través de modificación por ingeniería genética (Park, Rosenberg *et al.* 2011). La transferencia de células T específicas de antígenos virales es un procedimiento bien establecido usado para el tratamiento de infecciones virales asociadas a trasplantes y tumores malignos relacionados con virus poco comunes. De manera similar, el aislamiento y la transferencia de células T específicas de tumor han mostrado ser satisfactorios en el tratamiento de melanoma.

#### 10 Activación y expansión de células T

Las células T pueden activarse antes de o después de la modificación genética y expandirse *in vitro* o *in vivo* generalmente según los métodos descritos, por ejemplo, en las patentes estadounidenses 6.352.694; 6.534.055; 6.905.680; 6.692.964; 5.858.358; 6.887.466; 6.905.681; 7.144.575; 7.067.318; 7.172.869; 7.232.566; 7.175.843; 5.883.223; 6.905.874; 6.797.514; 6.867.041; y publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 20060121005.

15 En general, se expanden mediante contacto con un agente que estimula un complejo de CD3 TCR y una molécula coestimuladora en la superficie de las células T para crear una señal de activación para la célula T. Por ejemplo, pueden usarse productos químicos tales como ionóforo de calcio A23187, 12-miristato-13-acetato de forbol (PMA) o lectinas mitogénicas como fitohemaglutinina (PHA) para crear una señal de activación para la célula T. Como ejemplos no limitativos, pueden estimularse poblaciones de células T *in vitro* tal como mediante contacto con un anticuerpo anti-CD3, o fragmento de unión a antígeno del mismo, o un anticuerpo anti-CD2 inmovilizado sobre una superficie, o mediante contacto con un activador de proteína cinasa C (por ejemplo, briostatina) conjuntamente con un ionóforo de calcio. Para la coestimulación de una molécula accesoria en la superficie de las células T, se usa un ligando que se une a la molécula accesoria. Por ejemplo, puede ponerse en contacto una población de células T con un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28, en condiciones apropiadas para estimular la proliferación de las células T. Para estimular la proliferación de o bien células T CD4+ o bien células T CD8+, un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28. Por ejemplo, los agentes que proporcionan cada señal pueden estar en disolución o acoplados a una superficie. Tal como pueden apreciar fácilmente los expertos habituales en la técnica, la razón de partículas con respecto a células puede depender del tamaño de partícula en relación con la célula diana. Las células, tales como células T, pueden combinarse con perlas recubiertas con agente, las perlas y las células se separan posteriormente, y luego se cultivan las células. En un ejemplo alternativo, antes del cultivo, las perlas recubiertas con agente y las células no se separan sino que se cultivan juntas. Las condiciones apropiadas para el cultivo de células T incluyen un medio apropiado (por ejemplo, medio esencial mínimo o medio RPMI 1640 o X-vivo 5, (Lonza)) que puede contener factores necesarios para la proliferación y viabilidad, incluyendo suero (por ejemplo, suero bovino o humano fetal), interleucina-2 (IL-2), insulina, IFN-g, 1L-4, 1L-7, GM-CSF, -10, -2, 1L-15, TGFp y TNF- o cualquier otro aditivo para el crecimiento de células conocido por el experto en la técnica. Otros aditivos para el crecimiento de células incluyen, pero no se limitan a, tensioactivo, plasmanato y agentes reductores tales como N-acetilcisteína y 2-mercaptoetanol. Los medios pueden incluir RPMI 1640, A1M-V, DMEM, MEM, a-MEM, F-12, X-Vivo 1 y X-Vivo 20, Optimizer, con aminoácidos, piruvato de sodio y vitaminas añadidos, o bien libres de suero o bien complementados con una cantidad apropiada de suero (o plasma) o un conjunto definido de hormonas, y/o una cantidad de citocina(s) suficiente para el crecimiento y la expansión de células T. Antibióticos, por ejemplo, penicilina y estreptomina, se incluyen sólo en cultivos experimentales, no en cultivos de células que van a infundirse en un sujeto. Las células diana se mantienen en condiciones necesarias para soportar el crecimiento, por ejemplo, una temperatura (por ejemplo, 37°C) y atmósfera (por ejemplo, aire más el 5% de CO<sub>2</sub>) apropiadas. Las células T que se han expuesto a tiempos de estimulación variados pueden presentar diferentes características.

45 En otro ejemplo particular, dichas células pueden expandirse mediante cocultivo con tejido o células.

#### Aplicaciones terapéuticas

La célula inmunitaria aislada modificada por ingeniería genética tal como se describió anteriormente puede usarse como medicamento, en particular para el tratamiento de cánceres o infecciones en un paciente que lo necesita. Se dan a conocer en el presente documento métodos para tratar pacientes que comprenden al menos una de las siguientes etapas:

(a) proporcionar una célula inmunitaria que puede obtenerse mediante uno cualquiera de los métodos descritos anteriormente;

(b) administrar dichas células inmunitarias transformadas a dicho paciente.

55 Antes de la administración de las células T de la invención, las células pueden someterse a expansión de células T *in vivo* robusta para obtener persistencia durante una cantidad de tiempo prolongada. Dicho tratamiento puede ser de mejora, curativo o profiláctico. Puede ser o bien parte de una inmunoterapia autóloga o bien parte de un tratamiento de inmunoterapia alogénica.

Por autólogo, quiere decirse que las células, la línea celular o la población de células usadas para tratar pacientes se

originan a partir de dicho paciente o a partir de un donante compatible para antígeno leucocitario humano (HLA). Por alogénico quiere decirse que las células o la población de células usadas para tratar pacientes no se originan de dicho paciente sino de un donante.

5 La invención es particularmente adecuada para inmunoterapia alogénica, en cuanto que permite la transformación de células T, normalmente obtenidas de donantes, para dar células no alorreactivas. Esto puede realizarse con protocolos convencionales y reproducirse tantas veces como sea necesario. Las células T modificadas resultantes pueden agruparse y administrarse a uno o varios pacientes, poniéndose a disposición como un producto terapéutico “disponible en el mercado”.

10 Las células que pueden usarse con los métodos dados a conocer se describen en la sección previa. Dicho tratamiento puede usarse para tratar pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer, infección viral, trastornos autoinmunitarios o enfermedad de injerto contra huésped (GvHD). Los cánceres que pueden tratarse incluyen tumores que no están vascularizados, o aún no sustancialmente vascularizados, así como tumores vascularizados. Los cánceres pueden comprender tumores no sólidos (tales como tumores hematológicos, por ejemplo, leucemias y linfomas) o pueden comprender tumores sólidos. Los tipos de cánceres que van a tratarse con los CAR de múltiples cadenas de la invención incluyen, pero no se limitan a, carcinoma, blastoma y sarcoma, y determinados tumores malignos linfoides o de leucemia, tumores benignos y malignos, y tumores malignos, por ejemplo, sarcomas, carcinomas y melanomas. También se incluyen tumores/cánceres de adultos y tumores/cánceres pediátricos.

15 El tratamiento puede administrarse a pacientes en combinación con una o más terapias contra el cáncer seleccionadas del grupo de terapia con anticuerpos, quimioterapia, terapia con citocinas, terapia con células dendríticas, terapia génica, terapia hormonal, terapia con luz láser y radioterapia.

20 Dicho tratamiento puede administrarse a pacientes que se someten a un tratamiento inmunosupresor o quimioterapia puesto que la presente invención proporciona preferiblemente células, que se han hecho resistentes a al menos un agente inmunosupresor y/o de quimioterapia debido a la inactivación de un gen que codifica para un receptor para tal agente inmunosupresor o que la hace resistente al tratamiento de quimioterapia. En este aspecto, el tratamiento inmunosupresor o de quimioterapia puede ayudar a la selección y expansión de las células T según la invención dentro del paciente.

25 La administración de las células o población de células puede llevarse a cabo de cualquier manera conveniente, incluyendo mediante inhalación de aerosol, inyección, ingestión, transfusión, implantación o trasplante. Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse a un paciente por vía subcutánea, intradérmica, intratumoral, intranodal, intramedular, intramuscular, mediante inyección intravenosa o intralinfática o por vía intraperitoneal. Las composiciones de células pueden administrarse preferiblemente mediante inyección intravenosa.

30 La administración de las células o población de células puede consistir en la administración de  $10^4$ - $10^9$  células por kg de peso corporal, preferiblemente de  $10^5$  a  $10^6$  células/kg de peso corporal incluyendo todos los valores de números enteros de números de células dentro de esos intervalos. Las células o población de células pueden administrarse en una o más dosis. En otra realización, dicha cantidad eficaz de células se administra como una única dosis. En otra realización, dicha cantidad eficaz de células se administra como más de una dosis a lo largo de un periodo de tiempo. El momento de administración está dentro del criterio del médico encargado y depende del estado clínico del paciente. Las células o población de células pueden obtenerse de cualquier fuente, tal como un banco de sangre o un donante. Aunque las necesidades individuales varían, la determinación de intervalos óptimos de cantidades eficaces de un tipo celular dado para una enfermedad o estados particulares está dentro de la experiencia de la técnica. Una cantidad eficaz significa una cantidad que proporciona un beneficio terapéutico o profiláctico. La dosificación administrada dependerá de la edad, la salud y el peso del receptor, la clase de tratamiento simultáneo, si lo hay, la frecuencia de tratamiento y la naturaleza del efecto deseado.

35 Dicha cantidad eficaz de células o composición que comprenden esas células puede administrarse por vía parenteral. Dicha administración puede ser una administración intravenosa. Dicha administración puede realizarse directamente mediante inyección dentro de un tumor.

40 Pueden administrarse células a un paciente conjuntamente con (por ejemplo, antes, simultáneamente o después) cualquiera de varias modalidades de tratamiento relevantes, incluyendo pero sin limitarse a tratamiento con agentes tales como terapia antiviral, cidofovir e interleucina-2, citarabina (también conocida como ARA-C) o tratamiento con natalizimab para pacientes con MS o tratamiento con efalizimab para pacientes con psoriasis u otros tratamientos para pacientes con PML. Las células T de la invención pueden ser para su uso en combinación con quimioterapia, radiación, agentes inmunosupresores, tales como ciclosporina, azatioprina, metotrexato, micofenolato, y FK506, anticuerpos u otros agentes inmunosupresores tales como CAM PATH, anticuerpos anti-CD3 u otras terapias con anticuerpos, citoxina, fludaribina, ciclosporina, FK506, rapamicina, ácido micofenólico, esteroides, FR901228, citocinas e irradiación. Estos fármacos inhiben o bien la fosfatasa dependiente de calcio calcineurina (ciclosporina y FK506) o bien inhiben la cinasa p70S6 que es importante para la señalización inducida por factores de crecimiento (rapamicina) (Liu *et al.*, Cell 66:807-815, 11; Henderson *et al.*, Immun. 73:316-321, 1991; Bierer *et al.*, Citr. Opin. mm n. 5:763-773, 93). En un ejemplo adicional, las composiciones de células se administran a un paciente

conjuntamente con (por ejemplo, antes, simultáneamente o después) el trasplante de médula ósea, terapia supresora de células T usando o bien agentes quimioterápicos tales como fludarabina, radioterapia de haz externo (XRT), ciclofosfamida o anticuerpos tales como OKT3 o CAMPATH. Las composiciones de células pueden administrarse tras la terapia supresora de células B tal como agentes que reaccionan con CD20, por ejemplo, Rituxan. Por ejemplo, los sujetos pueden someterse a tratamiento convencional con quimioterapia a dosis alta seguido por trasplante de células madre de sangre periférica. En determinadas ocasiones, tras el trasplante, los sujetos reciben una infusión de las células inmunitarias expandidas. En una ocasión adicional, las células expandidas se administran antes o después de la cirugía. Dichas células modificadas obtenidas mediante uno cualquiera de los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar pacientes que lo necesitan contra el rechazo de huésped contra injerto (HvG) y la enfermedad de injerto contra huésped (GvHD); por tanto se da a conocer en el presente documento un método de tratamiento de pacientes que lo necesitan frente a rechazo de huésped contra injerto (HvG) y enfermedad de injerto contra huésped (GvHD) que comprende tratar dicho paciente administrando a dicho paciente una cantidad eficaz de células modificadas que comprenden genes de TCR alfa y/o TCR beta inactivados.

#### 15 Otras definiciones

- Se designan residuos de aminoácido en una secuencia de polipéptido en el presente documento según el código de una letra, en el que, por ejemplo, Q significa residuo de Gln o glutamina, R significa residuo de Arg o arginina y D significa residuo de Asp o ácido aspártico.

- Sustitución de aminoácido significa el reemplazo de un residuo de aminoácido por otro, por ejemplo el reemplazo de un residuo de arginina por un residuo de glutamina en una secuencia peptídica es una sustitución de aminoácido.

- Se designan nucleótidos tal como sigue: se usa el código de una letra para designar la base de un nucleósido: a es adenina, t es timina, c es citosina y g es guanina. Para los nucleótidos degenerados, r representa g o a (nucleótidos de purina), k representa g o t, s representa g o c, w representa a o t, m representa a o c, y representa t o c (nucleótidos de pirimidina), d representa g, a o t, v representa g, a o c, b representa g, t o c, h representa a, t o c, y n representa g, a, t o c.

- Tal como se usa en el presente documento, “ácido nucleico” o “polinucleótidos” se refiere a nucleótidos y/o polinucleótidos, tales como ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (RNA), oligonucleótidos, fragmentos generados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y fragmentos generados por cualquiera de ligación, escisión, acción de endonucleasas y acción de exonucleasas. Las moléculas de ácido nucleico pueden estar compuestas por monómeros que son nucleótidos que se producen de manera natural (tales como ADN y RNA), o análogos de nucleótidos que se producen de manera natural (por ejemplo, formas enantioméricas de nucleótidos que se producen de manera natural), o una combinación de ambos. Los nucleótidos modificados pueden tener alteraciones en restos de azúcar y/o en restos de base de pirimidina o purina. Las modificaciones de azúcar incluyen, por ejemplo, reemplazo de uno o más grupos hidroxilo por halógenos, grupos alquilo, aminas y grupos azido, o pueden funcionalizarse azúcares como éteres o ésteres. Además, todo el resto de azúcar puede reemplazarse por estructuras estérica y electrónicamente similares, tales como aza-azúcares y análogos de azúcar carbocíclicos. Los ejemplos de modificaciones en un resto de base incluyen purinas y pirimidinas alquiladas, purinas o pirimidinas aciladas, u otros sustitutos heterocíclicos bien conocidos. Los monómeros de ácido nucleico pueden unirse mediante enlaces fosfodiéster o análogos de tales uniones. Los ácidos nucleicos pueden ser o bien monocatenarios o bien bicatenarios.

- Por receptor de antígeno quimérico (CAR) está previsto moléculas que combinen un dominio de unión contra un componente presente en la célula diana, por ejemplo una especificidad basada en anticuerpo para un antígeno deseado (por ejemplo, antígeno tumoral) con un dominio intracelular de activación de receptor de células T para generar una proteína quimérica que presenta una actividad inmunitaria celular anti-diana específica. En la técnica anterior, los CAR consistían en polipéptidos de una única cadena que comprendían un anticuerpo de cadena sencilla (scFvFc) extracelular fusionado con el dominio de señalización intracelular de la cadena zeta de complejo de receptor de antígeno de células T (scFvFc:ζ) y tenían la capacidad, cuando se expresaban en células T, de redirigir el reconocimiento de antígeno basándose en la especificidad del anticuerpo monoclonal. Un ejemplo de CAR usado en la técnica anterior son CAR dirigidos contra el antígeno CD19 ( ). Los CAR según la presente invención se presentan con arquitecturas de una única cadena o de múltiples cadenas. El/los dominio(s) extracelular(es) de los mismos consisten en dominio de reconocimiento de antígeno de una única cadena que comprende un polipéptido de VNAR tal como se definió anteriormente. Este dominio extracelular está anclado a la membrana celular mediante fusión con un dominio transmembrana. El CAR puede adoptar una arquitectura de una única cadena o de múltiples cadenas. Cuando el CAR tiene una única cadena, dicho dominio transmembrana se fusiona con o incluye el dominio de señalización para formar un único polipéptido. Cuando el CAR es un CAR de múltiples cadenas, el dominio de señalización puede estar presente en otro polipéptido que se ensamblará con el polipéptido de fusión que comprende el polipéptido de VNAR.

- Por “vector de suministro” o “vectores de suministro” está previsto cualquier vector de suministro que pueda usarse según la presente divulgación para poner en contacto celular (es decir, “contactar”) o suministrar dentro de las células o compartimentos subcelulares (es decir, “introducir”) agentes/productos químicos y moléculas (proteínas o



ácidos nucleicos) necesarios según la presente divulgación. Incluye, pero no se limita a vectores de suministro liposomales, vectores de suministro virales, vectores de suministro de fármacos, portadores químicos, portadores poliméricos, lipoplejos, poliplejos, dendrímeros, microburbujas (agentes de contraste de ultrasonidos), nanopartículas, emulsiones u otros vectores de transferencia apropiados. Estos vectores de suministro permiten el suministro de moléculas, productos químicos, macromoléculas (genes, proteínas) u otros vectores tales como plásmidos, péptidos desarrollados por Diatos. En estos casos, los vectores de suministro son portadores de moléculas. Por "vector de suministro" o "vectores de suministro" también está previsto métodos de suministro para realizar la transfección.

- Los términos "vector" o "vectores" se refieren a una molécula de ácido nucleico que puede transportar otro ácido nucleico al que se ha unido. Un "vector" según la presente divulgación incluye, pero no se limita a, un vector viral, un plásmido, un vector de ARN o una molécula de ADN o ARN lineal o circular que puede consistir en ácidos nucleicos cromosómicos, no cromosómicos, semisintéticos o sintéticos. Vectores preferidos son los que pueden producir replicación autónoma (vector episomal) y/o expresión de ácidos nucleicos a los que están unidos (vectores de expresión). Los expertos en la técnica conocen grandes números de vectores adecuados y están disponibles comercialmente.

Los vectores virales incluyen retrovirus, adenovirus, parvovirus (por ejemplo virus adenoasociados), coronavirus, virus de ARN de cadena negativa tales como ortomixovirus (por ejemplo, virus influenza), rhabdovirus (por ejemplo, virus de la rabia y de la estomatitis vesicular), paramixovirus (por ejemplo virus del sarampión y Sendai), virus de ARN de cadena positiva tales como picornavirus y alfavirus, y virus de ADN bicatenario incluyendo adenovirus, herpesvirus (por ejemplo, virus del herpes simple tipos 1 y 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus), y poxvirus (por ejemplo, virus vaccinia, viruela aviar y viruela del canario). Otros virus incluyen virus Norwalk, togavirus, flavivirus, reovirus, papovavirus, hepadnavirus y virus de la hepatitis, por ejemplo. Los ejemplos de retrovirus incluyen: leucosis-sarcoma aviar, virus de tipo C, tipo B, virus de tipo D de mamíferos, grupo de VLTH-VLB, lentivirus, espumavirus (Coffin, J. M., Retroviridae: The viruses and their replication, en Fundamental Virology, tercera edición, B. N. Campos, *et al.*, Eds., Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, 1996).

- Por "vector lentiviral" quiere decirse vectores lentivirales basados en VIH que son muy prometedores para suministro de genes debido a su capacidad de empaquetamiento relativamente grande, reducida inmunogenicidad y su capacidad para transducir de manera estable con alta eficacia una gama grande de diferentes tipos de células. Se generan habitualmente vectores lentivirales tras la transfección transitoria de tres (empaquetamiento, envuelta y transferencia) o más plásmidos en células productivas. Como el VIH, los vectores lentivirales entran en la célula diana a través de la interacción de glicoproteínas de la superficie viral con receptores en la superficie celular. Al entrar, el ARN viral experimenta transcripción inversa, que está mediada por el complejo de transcriptasa inversa viral. El producto de la transcripción inversa es un ADN viral lineal bicatenario, que es el sustrato de la integración viral en el ADN de células infectadas. Por "vectores lentivirales integrativos (o LV)", quiere decirse tales vectores como ejemplo no limitativo, que pueden integrarse en el genoma de una célula diana. En contraposición, por "vectores lentivirales no integrativos (o NILV)" quiere decirse vectores de suministro génico eficaces que no se integran en el genoma de una célula diana a través de la acción de la integrasa del virus.

- Los vectores de suministro y vectores pueden asociarse o combinarse con cualquier técnica de permeabilización celular tal como sonoporación o electroporación o derivados de estas técnicas.

- Por célula o células está previsto cualquier célula viva eucariota, célula primaria y línea celular derivada de estos organismos para cultivos *in vitro*.

- Por "célula primaria" o "células primarias" está previsto células tomadas directamente de tejido vivo (es decir, material de biopsia) y establecidas para crecimiento *in vitro*, que han experimentado muy pocas duplicaciones de la población y son por tanto más representativas de los componentes funcionales principales y características de tejidos de los que se derivan, en comparación con líneas celulares inmortalizadas artificialmente o tumorigénicas continuas.

Como ejemplos no limitativos pueden seleccionarse líneas celulares del grupo que consiste en células CHO-K1; células HEK293; células Caco2; células U2-OS; células NIH 3T3; células NSO; células SP2; células CHO-S; células DG44; células K-562, células U-937; células MRC5; células IMR90; células Jurkat; células HepG2; células HeLa; células HT-1080; células HCT-116; células Hu-h7; células Huvec; células Molt 4.

Todas estas líneas celulares pueden modificarse mediante el método de la presente divulgación para proporcionar modelos de líneas celulares para producir, expresar, cuantificar, detectar, estudiar un gen o una proteína de interés; estos modelos pueden usarse también para examinar moléculas de interés biológicamente activas en investigación y producción y diversos campos tales como química, biocombustibles, productos terapéuticos y agronomía como ejemplos no limitativos.

- Por "mutación" está previsto la sustitución, delección, inserción de hasta uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, veinte, veinticinco, treinta, cuarenta, cincuenta, o más nucleótidos/aminoácidos en una secuencia de polinucleótido (ADNc, gen) o polipéptido. La mutación puede afectar a

la secuencia codificante de un gen o a su secuencia reguladora. También puede afectar a la estructura de la secuencia genómica o a la estructura/estabilidad del ARNm codificado.

- 5 - Por “variante(s)”, está previsto una variante de repetición, una variante, una variante de unión a ADN, una variante de TALE-nucleasa, una variante de polipéptido obtenida mediante mutación o reemplazo de al menos un residuo en la secuencia de aminoácidos de la molécula original.
- Por “variante funcional” está previsto un mutante catalíticamente activo de una proteína o un dominio proteico; tal mutante puede tener la misma actividad en comparación con su proteína o dominio proteico original o propiedades adicionales, o actividad superior o inferior.
- 10 - Por “gen” quiere decirse la unidad básica de la herencia, que consiste en un segmento de ADN dispuesto de una manera lineal a lo largo de un cromosoma, que codifica para una proteína o segmento de proteína específico. Un gen incluye normalmente un promotor, una región no traducida en 5', una o más secuencias codificantes (exones), opcionalmente intrones, una región no traducida en 3'. El gen puede comprender además un terminador, potenciadores y/o silenciadores.
- 15 - Por “proteína de fusión” está previsto el resultado de un proceso bien conocido en la técnica que consiste en la unión de dos o más genes que codifican originalmente para proteínas diferenciadas o parte de las mismas, dando como resultado la traducción de dicho “gen de fusión” un único polipéptido con propiedades funcionales derivadas de cada una de las proteínas originales.
- 20 - “Identidad” se refiere a identidad de secuencia entre dos moléculas de ácido nucleico o polipéptidos. La identidad puede determinarse comparando una posición en cada secuencia que puede alinearse para fines de comparación. Cuando una posición en la secuencia comparada está ocupada por la misma base, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. El grado de similitud o identidad entre secuencias de ácido nucleico o aminoácidos es una función del número de nucleótidos idénticos o coincidentes en posiciones compartidas por las secuencias de ácido nucleico. Pueden usarse diversos algoritmos y/o programas de alineación para calcular la identidad entre dos secuencias, incluyendo FASTA o BLAST que están disponibles como parte del paquete de análisis de secuencias GCG (Universidad de Wisconsin, Madison, Wis.), y pueden usarse con, por ejemplo, parámetros por defecto. Por ejemplo, se contemplan polipéptidos que tienen al menos el 70%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99% de identidad con polipéptidos específicos descritos en el presente documento y que presentan preferiblemente las mismas funciones sustancialmente, así como un polinucleótido que codifica para tales polipéptidos.
- 25 - “Similitud” describe la relación entre las secuencias de aminoácidos de dos o más polipéptidos. También puede usarse BLASTP para identificar una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 87,5%, el 90%, el 92,5%, el 95%, el 97,5%, el 98%, el 99% de similitud de secuencia con una secuencia de aminoácidos de referencia usando una matriz de similitud tal como BLOSUM45, BLOSUM62 o BLOSUM80. A menos que se indique lo contrario la puntuación se basará en el uso de BLOSUM62. Cuando se usa BLASTP, el porcentaje de similitud se basa en la puntuación de positivos de BLASTP y el porcentaje de identidad de secuencia se basa en la puntuación de identidades de BLASTP. Las “identidades” de BLASTP muestran el número y la fracción de residuos totales en los pares de secuencia de puntuación alta que son idénticos; y los “positivos” de BLASTP muestran el número y la fracción de residuos para los que las puntuaciones de alineación tienen valores positivos y que son similares entre sí. Se contemplan y se abarcan en esta divulgación secuencias de aminoácidos que tienen estos grados de identidad o similitud o cualquier grado intermedio de identidad o similitud con las secuencias de aminoácidos dadas a conocer en el presente documento.
- 30 - “Dominio de transducción de señales” o “ligando coestimulador” se refiere a una molécula en una célula presentadora de antígenos que se une específicamente a una molécula coestimuladora relacionada en una célula T, proporcionando de ese modo una señal que, además de la señal primaria proporcionada por, por ejemplo, la unión de un complejo de TCR/CD3 con una molécula del CMH cargada con péptido, media en una respuesta de células T, incluyendo, pero sin limitarse a, activación de la proliferación, diferenciación y similares. Un ligando coestimulador puede incluir pero no se limita a CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, ligando coestimulador inducible (ICOS-L), molécula de adhesión intercelular (ICAM, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, M1CB, HVEM, receptor de linfotóxina beta, 3/TR6, ILT3, ILT4, un agonista o anticuerpo que se une a receptor de ligando Toll y un ligando que se une específicamente con B7-H3. Un ligando coestimulador también abarca, entre otros, un anticuerpo que se une específicamente con una molécula coestimuladora presente en una célula T, tal como pero sin limitarse a, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno asociado a función de linfocitos-1 (LFA-1), CD2, CD7, LTGHT, NKG2C, B7-H3, un ligando que se une específicamente con CD83.
- 35 - “Anticuerpo biespecífico” se refiere a un anticuerpo que tiene sitios de unión para dos antígenos diferentes dentro de una molécula de anticuerpo individual. Los expertos en la técnica apreciarán que pueden construirse otras moléculas con dos especificidades de unión además de la estructura de anticuerpo canónica. Se apreciará además que la unión al antígeno por anticuerpos biespecíficos puede ser simultánea o secuencial. Pueden producirse anticuerpos biespecíficos mediante técnicas químicas (véase por ejemplo, Kranz *et al.* (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 5807), mediante técnicas de “polidoma” (véase la patente estadounidense n.º 4.474.893) o mediante técnicas de ADN recombinante, que se conocen todas *per se*. Como ejemplo no limitativo, cada dominio de unión
- 40
- 45
- 50
- 55

comprende al menos una región variable de una cadena pesada de anticuerpo (“región VH o H”), en el que la región VH del primer dominio de unión se une específicamente al marcador de linfocitos tal como CD3, y la región VH del segundo dominio de unión se une específicamente a antígeno tumoral.

5 - El término “dominio de unión a ligando extracelular” tal como se usa en el presente documento se define como un oligo- o polipéptido que puede unirse a un ligando. Preferiblemente, el dominio podrá interactuar con una molécula de superficie celular. Por ejemplo, el dominio de unión a ligando extracelular puede elegirse para reconocer un ligando que actúa como marcador de superficie celular en células diana asociadas con un estado patológico particular. Por tanto, los ejemplos de marcadores de superficie celular que pueden actuar como ligandos incluyen los asociados con infecciones virales, bacterianas y parasitarias, enfermedad autoinmunitaria y células cancerosas.

10 El término “sujeto” o “paciente” tal como se usa en el presente documento incluye todos los miembros del reino animal incluyendo seres humanos y primates no humanos.

Cuando se establece un intervalo o límite numérico en el presente documento, están incluidos los puntos finales. Además, todos los valores y subintervalos dentro de un intervalo o límite numérico están incluidos específicamente como si se escribieran explícitamente.

15 Los siguientes ejemplos se proporcionan en el presente documento para fines de ilustración sólo, y no pretenden limitar el alcance de la invención.

### Ejemplos

#### Electroporación de células T con ARNm que codifica respectivamente para un receptor de antígeno quimérico (CAR) de una única cadena y de múltiples cadenas anti-CD19:

20 Se siguió el mismo protocolo con los siguientes transcritos ilustrados respectivamente en las figuras 6 y 7:

- Transcrito monocistrónico de SEQ ID NO. 110 que codifica para un polipéptido de una única cadena de VNAR-CAR dirigido contra el antígeno CD19. Este transcrito codifica para un polipéptido de una única cadena que comprende un polipéptido de VNAR anti-CD19 derivado del armazón SEQ ID NO. 1 fusionado con un dominio transmembrana de CD8 alfa, fusionado por sí mismo con el dominio coestimulador 4-1BB y el dominio de señalización CD3zeta que comprende un ITAM.

25

- Transcrito policistrónico de SEQ ID NO. 105 que codifica para un CAR de múltiples subunidades dirigido contra el antígeno CD19. Se introducen secuencias de T2A y F2A para dividir las secuencias traducidas en las diferentes cadenas. La primera cadena codifica para el polipéptido de VNAR externo anti-CD19 (el mismo que para el CAR de una única cadena) unido al dominio transmembrana de la cadena alfa de Fc $\epsilon$ RI.

30 En ambas arquitecturas, se usó la región de bisagra de la cadena alfa de CD8 porque puede detectarse a través de tinción con anticuerpo de cabra conjugado con PE en la superficie de las células T transformadas.

Los transcritos también contenían una secuencia de péptido señal alfa específica de células T para permitir un direccionamiento eficaz a la membrana plasmática.

35 La humanización del polipéptido de VNAR usado para seleccionar como diana CD19 podría realizarse reemplazando un elemento estructural diferente de la estructura primaria de VNAR (es decir, ubicado principalmente fuera de las regiones CDR3 y CDR1) por una secuencia de aminoácidos que se encuentre en anticuerpos humanos estructuralmente similares. Como ejemplo, tal enfoque se ha usado satisfactoriamente para humanizar VNAR 5A7 usando el anticuerpo humano DPK9, un miembro del subgrupo 1 kappa variable (Vk1) como región de marco.

40 Se resuspendieron  $5 \times 10^6$  células T preactivadas varios días (3-5) con perlas recubiertas con anticuerpo anti-CD3/CD28 e IL2 en tampón de citoporción T, y se sometieron a electroporación en cubetas de 0,4 cm sin ARNm o con 10  $\mu$ g de ARNm que codifica respectivamente para el VNAR-CAR de una única cadena (SEQ ID NO: 110) y el VNAR-CAR de múltiples cadenas (SEQ ID NO. 105).

45 24 horas tras la electroporación, se tiñeron las células con un colorante de viabilidad que puede fijarse eFluor-780 y un anticuerpo de cabra anti-CD8 conjugado con PE para evaluar la expresión en la superficie celular del CAR en las células vivas.

24 horas tras la electroporación, se cocultivaron células T con células Daudi (CD19<sup>+</sup>) durante 6 horas y se analizaron mediante citometría de flujo para detectar la expresión del marcador de desgranulación CD107a en su superficie (Betts, Brenchley *et al.* 2003).

50 Los resultados mostraron que la mayoría de las células sometidas a electroporación, o bien con el ARNm monocistrónico o bien con el ARNm policistrónico tal como se describió anteriormente, se desgranularon en presencia de células diana que expresan CD19. Estos resultados demuestran claramente que el VNAR-CAR expresado en la superficie de células T sometidas a electroporación era activo con las arquitecturas de tanto una única cadena como de múltiples cadenas.

ES 2 701 846 T3

Tabla 2 - Secuencias enumeradas en la presente memoria descriptiva

Descripción de secuencia	SEQ_ID_NO
>gi 491668396 pdb 4HGK D Cadena D, dominio variable de IgNAR de tiburón (E06)	SEQ_ID NO 1
>gi 491668397 pdb 4HGM A Cadena A, dominio variable de IgNAR de tiburón	SEQ_ID NO 2
>gi 59892033 gb AAX10148.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 3
>gi 59892031 gb AAX10147.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 4
>gi 355525308 gb AES92986.1  Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [ <i>Squalus acanthias</i> ]	SEQ_ID NO 5
>gi 355525312 gb AES92988.1  Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [ <i>Squalus acanthias</i> ]	SEQ_ID NO 6
>gi 355525306 gb AES92985.1  Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [ <i>Squalus acanthias</i> ]	SEQ_ID NO 7
>gi 59892021 gb AAX10142.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 8
>gi 59892019 gb AAX10141.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 9
>gi 59892017 gb AAX10140.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 10
>gi 21539972 gb AAM52970.  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 11
>gi 355525310 gb AES92987.1  Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [ <i>Squalus acanthias</i> ]	SEQ_ID NO 12
>gi 25987499 gb AAN75876.1 AF447120_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 13
>gi 21805812 gb AAM76812.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 14
>gi 25987497 gb AAN75875.1 AF447119_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 15
>gi 307685087 db BAJ20185.1  inmunoglobulina NAR [ <i>Triakis scyllium</i> ]	SEQ_ID NO 16
>gi 59892015 gb AAX10139.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 17
>gi 3982965 gb AAC83733.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 18
>gi 21747962 gb AAM76235.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 19
>gi 21898882 gb AAM77162.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 20
>gi 21805800 gb AAM76806.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 21
>gi 59892023 gb AAX10143.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 22
>gi 21805822 gb AAM76817.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 23
>gi 21898926 gb AAM77183.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 24
>gi 21655108 gb AAL58520.1  dominio variable de nuevo receptor de antígeno [ <i>Orectolobus maculatus</i> ]	SEQ_ID NO 25
>gi 52696108 pdb 1VER A Cadena A, estructura de dominio variable de nuevo receptor de antígeno de tiburones >gi 32709090 gb AAP86761.1  dominio variable de nuevo receptor de antígeno [ <i>Orectolobus maculatus</i> ]	SEQ_ID NO 26
>gi 3986584 gb AAC84086.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 27
>gi 3983003 gb AAC83752.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 28
>gi 15420366 gb AAK97360.1  nuevo receptor de antígeno [ <i>Orectolobus maculatus</i> ]	SEQ_ID NO 29
>gi 59892029 gb AAX10146.1  región variable de inmunoglobulina NAR [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 30
>gi 59892025 gb AAX10144.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]	SEQ_ID NO 31
>gi 25987461 gb AAN75857.1 AF447101_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 32
>gi 21898887 gb AAM77164.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 33
>gi 21898924 gb AAM77182.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 34
>gi 3983053 gb AAC83777.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 35
>gi 21539902 gb AAM52938.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 36
>gi 307685089 db BAJ20186.1  inmunoglobulina NAR [ <i>Triakis scyllium</i> ]	SEQ_ID NO 37
>gi 3986580 gb AAC84084.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 38
>gi 126009471 gb ABN64030.1  dominio variable de receptor de antígeno [ <i>Orectolobus maculatus</i> ]	SEQ_ID NO 39
>gi 25987459 gb AAN75856.1 AF447100_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 40
>gi 307685093 db BAJ20188.1  inmunoglobulina NAR [ <i>Triakis scyllium</i> ]	SEQ_ID NO 41
>gi 21748031 gb AAM76269.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 42

ES 2 701 846 T3

>gi 3986664 gb AAC84126.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 43
>gi 3982949 gb AAC83725.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 44
>gi 21885446 gb AAM76964.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 45
>gi 21069163 gb AAM33846.1 AF466396_1 dominio variable de nuevo receptor de antígeno [ <i>Orectolobus maculatus</i> ]	SEQ_ID NO 46
>gi 21898928 gb AAM77184.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 47
>gi 21885420 gb AAM76954.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 48
>gi 21748025 gb AAM76266.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 49
>gi 21748015 gb AAM76261.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 50
>gi 21539976 gb AAM52972.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 51
>gi 21747995 gb AAM76251.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 52
>gi 21805816 gb AAM76814.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 53
>gi 21747977 gb AAM76242.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 54
>gi 21539983 gb AAM52975.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 55
>gi 21885436 gb AAM76960.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 56
>gi 25987495 gb AAN75874.1 AF447118_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 57
>gi 21885442 gb AAM76962.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 58
>gi 21885444 gb AAM76963.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 59
>gi 21748009 gb AAM76258.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 60
>gi 21539988 gb AAM52977.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 61
>gi 21748029 gb AAM76268.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 62
>gi 3986602 gb AAC84095.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 63
>gi 699465 gb AAB48206.1  receptor de antígeno novedoso, parcial [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 64
>gi 21539974 gb AAM52971.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 65
>gi 161172318 pdb 2Z8W C Cadena C, estructura de un complejo de IgNAR-Ama1	SEQ_ID NO 66
>gi 161172319 pdb 2Z8W D Cadena D, estructura de un complejo de IgNAR-Ama1	
>gi 21747979 gb AAM76243.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 67
>gi 21747983 gb AAM76245.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 68
>gi 21898862 gb AAM77152.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 69
>gi 25987501 gb AAN75877.1 AF447121_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 70
>gi 52696109 pdb 1VES A Cadena A, estructura de dominio variable de nuevo receptor de antígeno de tiburones	SEQ_ID NO 71
>gi 21898858 gb AAM77150.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 72
>gi 3986668 gb AAC84128.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 73
>gi 21747989 gb AAM76248.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 74
>gi 21747970 gb AAM76239.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 75
>gi 3982935 gb AAC83718.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 76
>gi 134104489 pdb 2I26 N Cadena N, análisis de la estructura cristalina del dominio variable ancestral de nuevo receptor de antígeno de tiburón nodriza en complejo con lisozima	SEQ_ID NO 77
>gi 3982937 gb AAC83719.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 78
>gi 3982933 gb AAC83717.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 79
>gi 3982955 gb AAC83728.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 80
>gi 307685091 dbj BAJ20187.1  inmunoglobulina NAR [ <i>Triakis scyllium</i> ]	SEQ_ID NO 81
>gi 3982959 gb AAC83730.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 82
>gi 3986596 gb AAC84092.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 83
>gi 25987449 gb AAN75851.1 AF447095_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 84
>gi 21748017 gb AAM76262.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 85
>gi 21885448 gb AAM76965.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 86
>gi 25987493 gb AAN75873.1 AF447117_1 receptor de antígeno novedoso [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 87
>gi 21885434 gb AAM76959.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 88
>gi 21885454 gb AAM76968.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	
>gi 21885378 gb AAM76934.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 89
>gi 3983005 gb AAC83753.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 90
>gi 3982975 gb AAC83738.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 91
>gi 21885440 gb AAM76961.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 92
>gi 3986588 gb AAC84088.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 93
>gi 21885395 gb AAM76942.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 94
>gi 21539954 gb AAM52962.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 95

>gi 21805808 gb AAM76810.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 96
>gi 699417 gb AAB48359.1  receptor de antígeno novedoso, parcial [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 97
>gi 21898842 gb AAM77142.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 98
>gi 21805883 gb AAM76843.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 99
>gi 21539947 gb AAM52959.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]	SEQ_ID NO 100
>1SQ2:N PDBID CHAIN SEQUENCE (5A7)	SEQ_ID NO 101
Nuevo receptor de antígeno ( <i>Orectolobus</i> ) Q90XW8_9CHON, secuencia de aminoácidos (clon 7E-80 de <i>Orectolobus maculatus</i> , nuevo receptor de antígeno)	SEQ_ID NO 102
Secuencia de aminoácidos del péptido señal alfa (de pCLS22370)	SEQ_ID NO 103
Secuencia de aminoácidos de péptido señal (de Q90XW8_9CHON)	SEQ_ID NO 104
VNAR-CAR2 quimérico (múltiples cadenas + dominio de bisagra endógeno)	SEQ_ID NO 105
VNAR-CAR3 quimérico (múltiples cadenas + dominio de bisagra de IgG1)	SEQ_ID NO 106
VNAR-CAR4 quimérico (múltiples cadenas + dominio de bisagra de CD8)	SEQ_ID NO 107
VNAR-CAR5 quimérico (cadena única + dominio de bisagra endógeno)	SEQ_ID NO 108
VNAR-CAR6 quimérico (cadena única + dominio de bisagra de IgG1)	SEQ_ID NO 109
VNAR-CAR7 quimérico (cadena única + dominio de bisagra de CD8)	SEQ_ID NO 110
CH2 CH3 de bisagra de IgG1	SEQ_ID NO 111
Bisagra de CD8 alfa	SEQ_ID NO 112
>sp P02786 89-760 TFR1_HUMAN secuencia de aminoácidos de la región extracelular	SEQ_ID NO 113
>sp Q9UP52 105-801 TFR2_HUMAN secuencia de aminoácidos de la región extracelular	SEQ_ID NO 114
12A9	SEQ_ID NO 115

**Bibliografía:**

- Ashwell, J. D. y R. D. Klusner (1990). "Genetic and mutational analysis of the T-cell antigen receptor." *Annu Rev Immunol* 8: 139-67.
- 5 Betts, M. R., J. M. Brenchley, *et al.* (2003). "Sensitive and viable identification of antigen-specific CD8+ T cells by a flow cytometric assay for degranulation." *J Immunol Methods* 281(1-2): 65-78.
- Boch, J., H. Scholze, *et al.* (2009). "Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors." *Science* 326(5959): 1509-12.
- 10 Cambier, J. C. (1995). "Antigen and Fc receptor signaling. The awesome power of the immunoreceptor tyrosinebased activation motif (ITAM)." *J Immunol* 155(7): 3281-5.
- Cermak, T., E. L. Doyle, *et al.* (2011). "Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting." *Nucleic Acids Res* 39(12): e82.
- Christian, M., T. Cermak, *et al.* (2010). "Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nucleases." *Genetics* 186(2): 757-61.
- 15 Deng, D., C. Yan, *et al.* (2012). "Structural basis for sequence-specific recognition of DNA by TAL effectors." *Science* 335(6069): 720-3.
- Geissler, R., H. Scholze, *et al.* (2011). "Transcriptional activators of human genes with programmable DNA-specificity." *PLoS One* 6(5): e19509.
- 20 Huang, P., A. Xiao, *et al.* (2011). "Heritable gene targeting in zebrafish using customized TALENs." *Nat Biotechnol* 29(8): 699-700.
- Jena, B., G. Dotti, *et al.* (2010). "Redirecting T-cell specificity by introducing a tumor-specific chimeric antigen receptor." *Blood* 116(7): 1035-44.
- Kovalenko, O.V., *et al.* (2013). "Atypical antigen recognition mode of a shark IgNAR variable domain characterized by humanization and structural analysis". *J. Biol. Chem.* 288: 17408-17419.
- 25 Li, L., M. J. Piatek, *et al.* (2012). "Rapid and highly efficient construction of TALE-based transcriptional regulators and nucleases for genome modification." *Plant Mol Biol* 78(4-5): 407-16.
- Li, T., S. Huang, *et al.* (2011). "TAL nucleases (TALNs): hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain." *Nucleic Acids Res* 39(1): 359-72.
- 30 Li, T., S. Huang, *et al.* (2011). "Modularly assembled designer TAL effector nucleases for targeted gene knockout and gene replacement in eukaryotes." *Nucleic Acids Res* 39(14): 6315-25.

- Ma, J. L., E. M. Kim, *et al.* (2003). "Yeast Mre11 and Rad1 proteins define a Ku-independent mechanism to repair double-strand breaks lacking overlapping end sequences." *Mol Cell Biol* 23(23): 8820-8.
- Mahfouz, M. M., L. Li, *et al.* (2011). "De novo-engineered transcription activator-like effector (TALE) hybrid nuclease with novel DNA binding specificity creates double-strand breaks." *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(6): 2623-8.
- 5 Mak, A. N., P. Bradley, *et al.* (2012). "The crystal structure of TAL effector PthXo1 bound to its DNA target." *Science* 335(6069): 716-9.
- Metzger, H., G. Alcaraz, *et al.* (1986). "The receptor with high affinity for immunoglobulin E." *Annu Rev Immunol* 4: 419-70.
- 10 Miller, J. C., S. Tan, *et al.* (2011). "A TALE nuclease architecture for efficient genome editing." *Nat Biotechnol* 29(2): 143-8.
- Morbitzer, R., P. Romer, *et al.* (2011). "Regulation of selected genome loci using de novo-engineered transcription activator-like effector (TALE)-type transcription factors." *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(50): 21617-22.
- Moscou, M. J. y A. J. Bogdanove (2009). "A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors." *Science* 326(5959): 1501.
- 15 Mussolino, C., R. Morbitzer, *et al.* (2011). "A novel TALE nuclease scaffold enables high genome editing activity in combination with low toxicity." *Nucleic Acids Res* 39(21): 9283-93.
- Park, T. S., S. A. Rosenberg, *et al.* (2011). "Treating cancer with genetically engineered T cells." *Trends Biotechnol* 29(11): 550-7.
- 20 Sander, J. D., L. Cade, *et al.* (2011). "Targeted gene disruption in somatic zebrafish cells using engineered TALENs." *Nat Biotechnol* 29(8): 697-8.
- Tesson, L., C. Usal, *et al.* (2011). "Knockout rats generated by embryo microinjection of TALENs." *Nat Biotechnol* 29(8): 695-6.
- Weber, E., R. Gruetzner, *et al.* (2011). "Assembly of designer TAL effectors by Golden Gate cloning." *PLoS One* 6(5): e19722.
- 25 Zhang, F., L. Cong, *et al.* (2011). "Efficient construction of sequence-specific TAL effectors for modulating mammalian transcription." *Nat Biotechnol* 29(2): 149-53.

**Lista de secuencias**

- <110> Collectis
- 30 <120> RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO QUE USA DOMINIOS DE RECONOCIMIENTO DE ANTÍGENOS DERIVADOS DE PEZ CARTILAGINOSO
- <130> P81400237PCT00
- 35 <150> PA201470016  
<151> 14-01-2014
- <160> 115
- 40 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 128
- 45 <212> PRT  
<213> secuencia artificial
- <220>
- 50 <223> >gij491668396|pdb|4HGK|D Cadena D, dominio variable de IgNAR de tiburón (E06)
- <400> 1

ES 2 701 846 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Ala His Ser Thr Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu  
 20 25 30

Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Thr Asp Thr Ser Tyr  
 35 40 45

Pro Leu Tyr Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Asn Pro Gly Ser Ser Asn  
 50 55 60

Lys Glu Gln Ile Ser Ile Ser Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys  
 65 70 75 80

Gly Thr Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Lys Asp Leu Thr Val Ala Asp  
 85 90 95

Ser Ala Thr Tyr Ile Cys Arg Ala Met Gly Thr Asn Ile Trp Thr Gly  
 100 105 110

Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn His His His His His His  
 115 120 125

<210> 2

5 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial

<220>

10 <223> >gij|491668397|pdb|4HGM|A Cadena A, dominio variable de IgNAR de tiburón

<400> 2



ES 2 701 846 T3

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

Arg Val Thr Ile Thr Cys Val Leu Thr Asp Thr Ser Tyr Pro Leu Tyr  
20 25 30

Ser Thr Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Asn Lys Glu Gln  
35 40 45

Ile Ser Ile Ser Gly Arg Tyr Ser Glu Ser Val Asn Lys Gly Thr Lys  
50 55 60

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

Tyr Tyr Cys Arg Ala Met Gly Thr Asn Ile Trp Thr Gly Asp Gly Ala  
85 90 95

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ala Ala Ala His His His His His His  
100 105 110

<210> 3

5 <211> 109

<212> PRT

<213> *Heterodontus francisci*

<220>

10 <223> >gij59892033|gb|AAX10148.1| región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [*Heterodontus francisci*]

<400> 3

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Met Ala Thr Arg Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Val Asp Ala Ser Cys Asp Leu Ser  
20 25 30

Asp Thr Phe Trp Phe Arg Asn Asn Pro Gly Ser Thr His Arg Glu Arg  
35 40 45

Ile Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Val Gln Ser Val Asn Lys Gly Ala Lys  
50 55 60

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

Tyr Tyr Cys Lys Ala Gln Thr Leu Tyr Ser Leu Phe Cys Asp Asp Asp  
85 90 95

Tyr Tyr Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn  
100 105

15

<210> 4

ES 2 701 846 T3

<211> 106  
 <212> PRT  
 <213> *Heterodontus francisci*

5

<220>  
 <223> >gi|59892031|gb|AAX10147.1| región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [*Heterodontus francisci*]

<400> 4  
 Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ser Thr Arg Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

Phe Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Val Asp Thr Asn Tyr Ala Leu Ala  
 20 25 30

Thr Thr Ser Trp Tyr Arg Asp Ala Pro Phe Pro Thr Asp Arg Glu Gln  
 35 40 45

Ile Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Leu Glu Ser Val Asn Lys Gly Thr Lys  
 50 55 60

Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Met Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr  
 65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Glu Ala Gly Glu Lys Arg Tyr Met Gly Ile His Val Tyr  
 85 90 95

Ala Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asp  
 10 100 105

<210> 5

<211> 637  
 <212> PRT  
 <213> *Squalus acanthias*

<220>  
 <223> >gi|355525308|gb|AES92986.1| Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [*Squalus acanthias*]

20

<400> 5

ES 2 701 846 T3

Gly Ile Arg Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Thr Asp Thr Ser Tyr Ala  
1 5 10 15

Phe Tyr Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Asn Pro Gly Ser Ser Asn Lys  
20 25 30

Glu Gln Ile Ser Ile Ser Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Arg  
35 40 45

Thr Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Lys Asp Leu Thr Val Ala Asp Ser  
50 55 60

Ala Thr Tyr Ile Cys Lys Ala Tyr Ser Ser Val Trp Ser Thr Gly Ser  
65 70 75 80

Asn Tyr Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn Ser Ala Pro  
85 90 95

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

Leu Arg Glu Lys Gly Phe Val Gln Leu Val Cys Leu Ile Ser Glu Tyr  
115 120 125

Gln Pro Glu Ser Ile Gly Val Ser Trp Glu Lys Asn Gly Asn Ala Ile  
130 135 140

Gln Ser Gly Phe Thr Thr Ser Ser Ala Ala Lys Asn Ser Asn Gly Asp  
145 150 155 160

Phe Ser Ser Thr Ser Leu Leu Gln Val Pro Leu Gln Glu Trp Ala Ser  
165 170 175

Gly Ser Val Tyr Thr Cys Gln Val Ser His Ser Pro Thr Ser Ser Asn  
180 185 190

Gln Arg Lys Glu Ile Arg Ser Thr Ser Glu Leu Ala Val Phe Leu Arg  
195 200 205

Asp Pro Ser Val Glu Glu Ile Arg Ile Asn Lys Thr Ala Thr Leu Val  
210 215 220

ES 2 701 846 T3

Cys Glu Val Val Ser Thr Val Pro Thr Glu Val Ala Ile Ser Trp Thr  
 225 230 235 240  
 Val Asp Gly Lys Met Arg Thr Lys Gly Val Leu Thr Glu Pro Ala Thr  
 245 250 255  
 Lys Tyr Gly Asp Gln Tyr Leu Thr Ile Gly Arg Leu Thr Ser Ser Val  
 260 265 270  
 Glu Glu Trp Glu Ser Gly Ile Glu Tyr Ser Cys Ser Ala Gln Glu Gly  
 275 280 285  
 Gln Ser Ser Thr Ala Val Ser Gln Arg Thr Gly Lys Ala Lys Val Glu  
 290 295 300  
 Pro Val Lys Pro Lys Leu Arg Leu Leu Pro Pro Ser Pro Glu Glu Ile  
 305 310 315 320  
 Gln Ser Thr Ser Ala Ala Thr Leu Thr Cys Leu Ile Arg Gly Phe Tyr  
 325 330 335  
 Pro Asp Asn Ile Ile Val Ser Trp Glu Lys Asp Gly Ala Ala Leu Ser  
 340 345 350  
 Ala Asn Val Thr Ser Phe Pro Thr Ala Leu Glu Gln Asp Leu Thr Phe  
 355 360 365  
 Ser Thr Arg Ser Leu Leu Thr Leu Pro Ser Ala Glu Trp Lys Arg Gly  
 370 375 380  
 Ser Thr Tyr Thr Cys Ala Ala Ser His Pro Pro Ser Gln Ser Thr Val  
 385 390 395 400  
 Lys Gly Ser Ile Ser Ser Pro Lys Gly Asp Arg His Glu Ala Asp Ile  
 405 410 415  
 Ser Val Lys Ile Leu Asn Pro Pro Phe Glu Glu Ile Trp Thr Gln Arg  
 420 425 430  
 Thr Ala Thr Ile Val Cys Glu Val Val Tyr Ser Asp Leu Glu Asn Val  
 435 440 445  
 Ser Val Ser Trp Gln Val Asp Gly Ser Arg Arg Thr Glu Gly Val Glu  
 450 455 460  
 Thr Arg Thr Pro Glu Trp Ser Gly Ser Lys Ser Ala Val Val Ser Glu  
 465 470 475 480

ES 2 701 846 T3

Leu Lys Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu Ser Gly Val Glu Tyr Leu Cys  
 485 490 495

Phe Val Glu Asp Ser Ala Leu Pro Thr Pro Val Lys Ile Ser Thr Arg  
 500 505 510

Lys Val Lys Val Gly Glu Met Tyr Pro Pro Lys Val Tyr Val Leu Pro  
 515 520 525

Pro Ser Ala Asp Glu Ile Asp Thr Glu Asn Thr Ala Thr Leu Val Cys  
 530 535 540

Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Tyr Ile Ala Trp Met Ala  
 545 550 555 560

Asn Asp Thr Leu Leu Asp Ser Ala Tyr Pro Ser Gln Pro Asp Thr Glu  
 565 570 575

Lys Thr Asn Gly Ser Ser Ser Ile Gly Ser Arg Leu Arg Leu Thr Ala  
 580 585 590

Ala Glu Trp Asn Ser Gly Thr Thr Tyr Ser Cys Leu Val Gly His Pro  
 595 600 605

Ser Leu Lys Met Asn Leu Ile Arg Ser Ile Asn Lys Ser His Gly Lys  
 610 615 620

Pro Thr Leu Val Asn Ile Ser Leu Val Leu Thr Asp Arg  
 625 630 635

<210> 6

- 5 <211> 628
- <212> PRT
- <213> *Squalus acanthias*

<220>

- 10 <223> >gi|355525312|gb|AES92988.1| Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [*Squalus acanthias*]

<400> 6

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Thr Asp Thr Ser His Ser  
 1 5 10 15

Leu Tyr Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Asn Pro Gly Ser Ser Thr Thr  
 20 25 30

Glu Gln Ile Ser Ile Ser Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Arg  
 35 40 45

ES 2 701 846 T3

Thr Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Lys Asp Leu Thr Val Ala Asp Ser  
 50 55 60

Gly Thr Tyr Ile Cys Lys Gly Tyr Gly His Asp Gly Ala Gly Thr Val  
 65 70 75 80

Leu Thr Val Asn Ser Ala Pro Gln Pro Thr Pro Pro Ile Ile Ser Leu  
 85 90 95

Leu Tyr Ser Thr Thr Asp Glu Leu Arg Glu Lys Gly Phe Val Gln Leu  
 100 105 110

Val Cys Leu Ile Ser Glu Tyr Gln Pro Glu Ser Ile Gly Val Ser Trp  
 115 120 125

Glu Lys Asn Gly Asn Ala Ile Gln Ser Gly Phe Thr Ala Ser Ser Ala  
 130 135 140

Ala Lys Asn Ser Asn Gly Asp Phe Ser Ser Thr Ser Leu Leu Gln Val  
 145 150 155 160

Pro Leu Gln Glu Trp Ala Ser Gly Ser Val Tyr Thr Cys Gln Val Ser  
 165 170 175

His Ser Pro Thr Ser Ser Asn Gln Arg Lys Glu Ile Arg Ser Thr Ser  
 180 185 190

Glu Leu Ala Val Phe Leu Arg Asp Pro Ser Val Glu Glu Ile Trp Ile  
 195 200 205

Asn Lys Thr Ala Thr Leu Val Cys Glu Val Val Ser Thr Val Pro Thr  
 210 215 220

Glu Val Ala Ile Ser Trp Thr Val Asp Gly Lys Met Arg Thr Lys Gly  
 225 230 235 240

Val Leu Thr Glu Pro Ala Thr Lys Tyr Gly Asp Gln Tyr Leu Thr Ile  
 245 250 255

Gly Arg Leu Thr Ser Ser Val Glu Glu Trp Glu Ser Gly Ile Glu Tyr  
 260 265 270

Ser Cys Ser Ala Gln Glu Gly Gln Ser Ser Thr Ala Val Ser Gln Arg  
 275 280 285

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

ES 2 701 846 T3

Pro Pro Ser Pro Glu Glu Ile Gln Ser Thr Ser Ala Ala Thr Leu Thr  
 305 310 315 320  
 Cys Leu Ile Arg Gly Phe Tyr Pro Asp Asn Ile Ile Val Ser Trp Glu  
 325 330 335  
 Lys Asp Gly Ala Ala Leu Ser Ala Asn Val Thr Ser Phe Pro Thr Ala  
 340 345 350  
 Leu Glu Gln Asp Leu Thr Phe Ser Thr Arg Ser Leu Leu Thr Leu Pro  
 355 360 365  
 Ser Ala Glu Trp Lys Lys Gly Ser Thr Tyr Thr Cys Ala Ala Ser His  
 370 375 380  
 Pro Pro Ser Gln Ser Thr Val Lys Gly Ser Ile Ser Ser Pro Lys Gly  
 385 390 395 400  
 Asp Cys His Glu Ala Asp Ile Ser Val Lys Ile Leu Asn Pro Pro Phe  
 405 410 415  
 Glu Glu Ile Trp Thr Gln Arg Thr Ala Thr Ile Val Cys Glu Val Val  
 420 425 430  
 Tyr Ser Asp Leu Glu Asn Val Ser Val Ser Trp Gln Val Asp Gly Ser  
 435 440 445  
 Arg Arg Thr Glu Gly Val Glu Thr Arg Thr Pro Glu Trp Ser Gly Ser  
 450 455 460  
 Lys Ser Ala Ile Val Ser Lys Leu Lys Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu  
 465 470 475 480  
 Ser Gly Val Glu Tyr Leu Cys Phe Val Glu Asp Ser Ala Leu Pro Thr  
 485 490 495  
 Pro Val Lys Ile Ser Thr Arg Lys Val Lys Val Gly Glu Met Tyr Pro  
 500 505 510  
 Pro Lys Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Ala Asp Glu Ile Asp Thr Glu  
 515 520 525  
 Asn Thr Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Ala Glu  
 530 535 540  
 Ile Tyr Ile Ala Trp Met Ala Asn Asp Thr Leu Leu Asp Ser Ala Tyr

ES 2 701 846 T3

545 550 555 560

Pro Ser Gln Pro Asp Thr Glu Lys Thr Asn Gly Ser Ser Ser Ile Gly  
565 570 575

Ser Arg Leu Arg Leu Thr Ala Ala Glu Trp Asn Ser Gly Thr Thr Tyr  
580 585 590

Ser Cys Leu Val Gly His Pro Ser Leu Lys Met Asn Leu Ile Arg Ser  
595 600 605

Ile Asn Lys Ser His Gly Lys Pro Thr Leu Val Asn Ile Ser Leu Val  
610 615 620

Leu Thr Asp Arg  
625

<210> 7

5 <211> 635  
<212> PRT  
<213> *Squalus acanthias*

<220>

10 <223> >gi|355525306|gb|AES92985.1| Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [*Squalus acanthias*]

<400> 7

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Ile Asp Thr Ser Tyr Val  
1 5 10 15

Leu Tyr Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Arg Thr Pro Gly Ser Ser Asn Glu  
20 25 30

Glu Gln Ile Ser Ile Ser Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Arg  
35 40 45

Thr Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Lys Asp Leu Thr Val Ala Asp Ser  
50 55 60

Ala Thr Tyr Ile Cys Lys Ala Tyr Arg Ser Thr Leu Pro Gly Ser Asp  
65 70 75 80

Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn Ser Ala Pro Gln Pro  
85 90 95

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

Glu Lys Gly Phe Val Gln Leu Val Cys Leu Ile Ser Glu Tyr Gln Pro



ES 2 701 846 T3

115		120		125											
Glu	Ser	Ile	Gly	Val	Ser	Trp	Glu	Lys	Asn	Gly	Asn	Ala	Ile	Gln	Ser
130						135					140				
Gly	Phe	Thr	Thr	Ser	Ser	Ala	Ala	Lys	Asn	Ser	Asn	Gly	Asp	Phe	Ser
145					150					155					160
Ser	Thr	Ser	Leu	Leu	Gln	Val	Pro	Leu	Gln	Glu	Trp	Ala	Ser	Gly	Ser
			165						170					175	
Val	Tyr	Thr	Cys	Gln	Val	Ser	His	Ser	Pro	Thr	Ser	Ser	Asn	Gln	Arg
			180					185					190		
Lys	Glu	Ile	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Leu	Ala	Val	Phe	Leu	Arg	Asp	Pro
		195					200					205			
Ser	Val	Glu	Glu	Ile	Trp	Ile	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Glu
	210					215					220				
Val	Val	Ser	Thr	Val	Pro	Thr	Glu	Val	Ala	Ile	Ser	Trp	Thr	Val	Asp
225					230					235					240
Gly	Lys	Met	Arg	Thr	Lys	Gly	Val	Leu	Thr	Glu	Pro	Ala	Thr	Lys	Tyr
				245					250					255	
Gly	Asp	Gln	Tyr	Leu	Thr	Ile	Gly	Arg	Leu	Thr	Ser	Ser	Val	Glu	Glu
			260					265					270		
Trp	Glu	Ser	Gly	Ile	Glu	Tyr	Ser	Cys	Ser	Ala	Gln	Glu	Gly	Gln	Ser
		275					280					285			
Ser	Thr	Ala	Val	Ser	Gln	Arg	Thr	Gly	Lys	Ala	Lys	Val	Glu	Pro	Val
	290					295					300				
Lys	Pro	Lys	Leu	Arg	Leu	Leu	Pro	Pro	Ser	Pro	Glu	Glu	Ile	Gln	Ser
305					310					315					320
Thr	Ser	Ala	Ala	Thr	Leu	Thr	Cys	Leu	Ile	Arg	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp
				325					330					335	
Asn	Ile	Ile	Val	Ser	Trp	Glu	Lys	Asp	Gly	Ala	Ala	Leu	Ser	Ala	Asn
			340					345					350		
Val	Thr	Ser	Phe	Pro	Thr	Ala	Leu	Glu	Gln	Asp	Leu	Thr	Phe	Ser	Thr
		355					360					365			

ES 2 701 846 T3

Arg Ser Leu Leu Thr Leu Pro Ser Ala Glu Trp Lys Arg Gly Ser Thr  
 370 375 380  
 Tyr Thr Cys Ala Ala Ser His Pro Pro Ser Gln Ser Thr Val Lys Gly  
 385 390 395 400  
 Ser Ile Ser Ser Pro Lys Gly Asp Cys His Glu Ala Asp Ile Ser Val  
 405 410 415  
 Lys Ile Leu Asn Pro Pro Phe Glu Glu Ile Trp Thr Gln Arg Thr Ala  
 420 425 430  
 Thr Ile Val Cys Glu Val Val Tyr Ser Asp Leu Glu Asn Val Ser Val  
 435 440 445  
 Ser Trp Gln Val Asp Gly Ser Arg Arg Thr Glu Gly Val Glu Thr Arg  
 450 455 460  
 Thr Pro Glu Trp Ser Gly Ser Lys Ser Ala Ile Val Ser Lys Leu Lys  
 465 470 475 480  
 Val Thr Arg Ala Glu Trp Glu Ser Gly Val Glu Tyr Leu Cys Phe Val  
 485 490 495  
 Glu Asp Ser Ala Leu Pro Thr Pro Val Lys Ile Ser Thr Arg Lys Val  
 500 505 510  
 Lys Val Gly Glu Met Tyr Pro Pro Lys Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser  
 515 520 525  
 Ala Asp Glu Ile Asp Thr Glu Asn Thr Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala  
 530 535 540  
 Thr Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Tyr Ile Ala Trp Met Ala Asn Asp  
 545 550 555 560  
 Thr Leu Leu Asp Ser Ala Tyr Pro Ser Gln Pro Asp Thr Glu Lys Thr  
 565 570 575  
 Asn Gly Ser Asn Ser Ile Gly Ser Arg Leu Arg Leu Thr Ala Ala Glu  
 580 585 590  
 Trp Asn Ser Gly Thr Thr Tyr Ser Cys Leu Val Gly His Pro Ser Leu  
 595 600 605  
 Lys Met Asn Leu Ile Arg Ser Ile Asn Lys Ser His Gly Lys Pro Thr  
 610 615 620  
 Leu Val Asn Ile Ser Leu Val Leu Thr Asp Arg  
 625 630 635

ES 2 701 846 T3

<210> 8

<211> 111  
 5 <212> PRT  
 <213> *Heterodontus francisci*

<220>  
 10 <223> >gij59892021|gb|AAX10142.1| región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [*Heterodontus francisci*]

<400> 8  
 Ala Arg Val Tyr Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Asn Cys Val Phe Thr Asp Ser Ser Cys Gly Leu His  
 20 25 30

Gly Thr Ser Trp Phe Arg Asn Asn Pro Gly Ser Thr Asp Trp Glu Arg  
 35 40 45

Ile Thr Ile Gly Arg Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Gly Ala Lys  
 50 55 60

Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Val Thr  
 65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Lys Ala Gln Thr Pro Thr Lys Ser Ser Tyr Leu Gly Cys  
 85 90 95

Ser Ser Tyr Tyr Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn  
 100 105 110

<210> 9

15 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Heterodontus francisci*

<220>  
 20 <223> >gij59892019|gb|AAX10141.1| región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [*Heterodontus francisci*]

<400> 9  
 Ala Ser Leu Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

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

ES 2 701 846 T3

Gly Thr Ser Trp Phe Arg Asn Asn Pro Gly Ser Thr Asp Trp Glu Arg  
 35 40 45

Ile Thr Ile Gly Arg Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Gly Ala Lys  
 50 55 60

Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Val Thr  
 65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Lys Ala Gln Thr Pro Thr Gly Ser Ser Tyr Leu Gly Cys  
 85 90 95

Ser Ser Tyr Tyr Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu  
 100 105

<210> 10

5 <211> 115

<212> PRT

<213> *Heterodontus francisci*

<220>

10 <223> >gij59892017|gblAAX10140.1| región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [*Heterodontus francisci*]

<400> 10

Ala Thr Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu Thr Gly  
 1 5 10 15

Glu Ser Leu Asn Ile Asn Cys Val Leu Thr Asp Thr Ser His Ile Ser  
 20 25 30

Phe Gly Thr Lys Trp Phe Trp Asn Asn Pro Gly Ser Thr Asp Trp Glu  
 35 40 45

Ser Ile Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Asn Gln Ala  
 50 55 60

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

Thr Tyr Tyr Cys Lys Ala Gln Thr Arg Tyr Phe Ser Asn Thr Arg Leu  
 85 90 95

Gly Glu Pro Leu Arg Ser Ser Asp Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu  
 100 105 110

Thr Val Asn  
 115

15 <210> 11

<211> 114

ES 2 701 846 T3

<212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>  
 5 <223> >gi|21539972|gb|AAM52970.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 11  
 Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr  
 1 5 10 15  
 Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys  
 20 25 30  
 Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg  
 35 40 45  
 Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg  
 50 55 60  
 Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile  
 65 70 75 80  
 Asn Asp Leu Thr Phe Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Pro Leu  
 85 90 95  
 Cys Ile Gly Asn Trp Arg Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val  
 100 105 110

Asn Pro

10 <210> 12

<211> 635  
 <212> PRT  
 <213> *Squalus acanthias*

15 <220>  
 <223> >gi|355525310|gb|AES92987.1| Forma secretora de cadena pesada de inmunoglobulina IgNAR, parcial [*Squalus acanthias*]

20 <400> 12  
 Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Thr Asp Thr Asn Tyr Gly  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Asn Pro Gly Ser Ser Asn Lys  
 20 25 30  
 Glu Gln Ile Ser Ile Ser Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Arg  
 35 40 45

ES 2 701 846 T3

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

ES 2 701 846 T3

290	295	300																								
Lys	Pro	Lys	Leu	Arg	Leu	Leu	Pro	Pro	Ser	Pro	Glu	Glu	Ile	Gln	Ser	305	310	315	320							
Thr	Ser	Ala	Ala	Thr	Leu	Thr	Cys	Leu	Ile	Arg	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	325	330	335								
Asn	Ile	Thr	Val	Ser	Trp	Glu	Lys	Asp	Gly	Ala	Ala	Leu	Ser	Ala	Asn	340	345	350								
Val	Thr	Ser	Ser	Pro	Thr	Ala	Leu	Glu	Gln	Asp	Gln	Thr	Phe	Ser	Thr	355	360	365								
Arg	Ser	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Ala	Glu	Trp	Lys	Arg	Glu	Ser	Thr	370	375	380								
Tyr	Thr	Cys	Ala	Ala	Ser	His	Pro	Pro	Ser	Gln	Ser	Thr	Val	Lys	Gly	385	390	395	400							
Ala	Ile	Ser	Ser	Pro	Lys	Gly	Asp	Cys	His	Glu	Ala	Asp	Ile	Ser	Val	405	410	415								
Lys	Ile	Leu	Asn	Pro	Pro	Phe	Glu	Glu	Ile	Trp	Thr	Gln	Arg	Thr	Ala	420	425	430	435							
Thr	Ile	Val	Cys	Glu	Val	Val	Tyr	Ser	Asp	Leu	Glu	Asn	Val	Ser	Val	435	440	445								
Ser	Trp	Gln	Val	Asp	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Glu	Gly	Val	Glu	Thr	Arg	450	455	460								
Thr	Pro	Glu	Trp	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Ala	Ile	Val	Ser	Lys	Leu	Lys	465	470	475	480							
Val	Thr	Arg	Ala	Glu	Trp	Glu	Ser	Gly	Val	Glu	Tyr	Leu	Cys	Phe	Val	485	490	495								
Glu	Asp	Ser	Ala	Leu	Pro	Thr	Pro	Val	Lys	Ile	Ser	Thr	Arg	Lys	Val	500	505	510								
Lys	Val	Gly	Glu	Met	Tyr	Pro	Pro	Lys	Val	Tyr	Val	Leu	Pro	Pro	Ser	515	520	525								
Ala	Asp	Glu	Ile	Asp	Thr	Glu	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ala	530	535	540								

ES 2 701 846 T3

Thr Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Tyr Ile Ala Trp Met Ala Asn Asp  
545 550 555 560

Thr Leu Leu Asp Ser Ala Tyr Pro Ser Gln Pro Asp Thr Glu Lys Ala  
565 570 575

Asn Gly Ser Ser Ser Ile Gly Ser Arg Leu Arg Leu Thr Ala Ala Glu  
580 585 590

Trp Asn Ser Gly Thr Thr Tyr Ser Cys Leu Val Gly His Pro Ser Leu  
595 600 605

Lys Arg Asn Leu Ile Arg Ser Ile Asn Lys Ser His Gly Lys Pro Thr  
610 615 620

Leu Val Asn Ile Ser Leu Val Leu Thr Asp Arg  
625 630 635

<210> 13

5 <211> 108

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij25987499|gb|AAN75876.1|AF447120\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 13

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser  
20 25 30

Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
50 55 60

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

Tyr Ala Cys Lys Ala Glu Gly Met Asp Arg Glu Ile Arg Leu Asn Cys  
85 90 95

Val Ile Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn  
100 105

15 <210> 14

<211> 124



ES 2 701 846 T3

<212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

5 <220>  
 <223> >gi|21805812|gb|AAM76812.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 14  
 Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
 20 25 30  
 Cys Val Leu Arg Asp Thr Asn Cys Pro Leu Ser Ser Thr Asp Trp Tyr  
 35 40 45  
 Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Ile Ala Gly  
 50 55 60  
 Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Val  
 85 90 95  
 Tyr Asn Trp Asn Asp Asp Ser Ser Asp Cys Glu Leu Pro Arg Tyr Asp  
 100 105 110  
 Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro  
 115 120

10 <210> 15

<211> 104  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

15 <220>  
 <223> >gi|25987497|gb|AAN75875.1|AF447119\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 15  
 Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser  
 20 25 30  
 Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
 35 40 45

20

ES 2 701 846 T3

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
 50 55 60

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

Tyr Arg Cys Lys Val Ser Arg Cys Ser Thr Asn Leu Ile Gly Tyr Gly  
 85 90 95

Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn  
 100

<210> 16

- 5 <211> 678
- <212> PRT
- <213> *Triakis scyllium*

<220>

- 10 <223> >gij307685087|dbj|BAJ20185.1| inmunoglobulina NAR [*Triakis scyllium*]

<400> 16

Met His Ile Phe Trp Ala Ala Leu Leu Leu Thr Trp Leu Ser Asn Ala  
 1 5 10 15

Phe Ser Ala His Val Asp Gln Thr Pro Arg Val Ala Thr Lys Glu Thr  
 20 25 30

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Gly Ala Ser Cys Gly  
 35 40 45

Leu Tyr Ala Thr Ser Trp Phe Arg Gln Asn Pro Gly Ser Thr Gly Trp  
 50 55 60

Glu Arg Ile Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Gly  
 65 70 75 80

Ser Lys Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser  
 85 90 95

Val Thr Phe Tyr Cys Lys Ala Gln Asp His Arg Tyr Tyr Val Ala Arg  
 100 105 110

Cys Leu Lys Ser Pro Ala Ala Asn Tyr Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val  
 115 120 125

Leu Thr Val Asn Pro Gly Pro Thr Pro Pro Ile Ile Asn Leu Phe Ser  
 130 135 140

ES 2 701 846 T3

Glu Thr Asp Glu Leu Arg Ala Lys Gly Phe Val Gln Leu Ile Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Ile Ser Glu Tyr Lys Pro Glu Ser Ile Arg Val Ser Trp Glu Lys Asn  
 165 170 175  
 Gly Asn Ala Arg Gln Ser Gly Phe Thr Thr Thr Ser Pro Cys Lys Thr  
 180 185 190  
 Ala Lys Gly Glu Phe Gln Ser Arg Ser Ile Leu Thr Leu Pro Leu Gln  
 195 200 205  
 Glu Trp Asn Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Ser Ala  
 210 215 220  
 Thr Asn Ser Asn Lys Arg Lys Glu Ile Arg Ser Thr Ser Glu Ile Thr  
 225 230 235 240  
 Val Phe Leu Arg Asp Pro Ser Leu Glu Glu Ile Trp Ile Lys Lys Thr  
 245 250 255  
 Val Thr Leu Ile Cys Glu Val Val Ser Thr Val Pro Ser Val Val Gly  
 260 265 270  
 Ile Ser Trp Thr Val Asp Gly Lys Lys Arg Thr Glu Gly Val Gln Ile  
 275 280 285  
 Glu Gly Arg Gln Gln Gly Gln Asn Gln Tyr Leu Thr Ile Ser Arg Leu  
 290 295 300  
 Thr Ser Ser Val Glu Glu Trp Asp Arg Gly Ala Glu Tyr Asn Cys Ser  
 305 310 315 320  
 Ala Gln Gln Ser Glu Ser Ser Thr Pro Val Ser Lys His Thr Gln Lys  
 325 330 335  
 Leu Lys Val Lys Pro Ser Lys Pro Asn Leu Arg Leu Leu Pro Pro Ser  
 340 345 350  
 Ala Glu Glu Leu Gln Ser Ser Ser Val Ala Thr Leu Thr Cys Leu Ile  
 355 360 365  
 Arg Gly Phe Tyr Pro Asp Lys Ile Ser Ile Ser Trp Glu Lys Asp Gly  
 370 375 380  
 Ala Val Leu Ser Ser Asn Ile Thr Arg Phe Pro Thr Ala Leu Glu Gln  
 385 390 395 400

ES 2 701 846 T3

Asp Gln Thr Phe Ser Thr Ser Ser Leu Leu Ile Leu Pro Ala Gly Glu  
 405 410 415  
 Trp Lys Thr Gly Ala Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Ser His Pro Ala Thr  
 420 425 430  
 Lys Phe Thr Gly Lys Arg Thr Ile Asn Ser Pro Lys Ala Asp Cys Tyr  
 435 440 445  
 Glu Glu Asp Ile Ser Val Asn Ile Leu Asn Pro Ser Phe Glu Glu Ile  
 450 455 460  
 Trp Val Gln Lys Thr Ala Thr Ile Val Cys Glu Ile Arg Tyr Thr Val  
 465 470 475 480  
 Leu Glu Asn Val Ser Val Ser Trp Gln Val Asp Gly Arg Met Arg Thr  
 485 490 495  
 Glu Gly Val Glu Thr Gln Thr Pro Glu Trp Ser Gly Ser Lys Thr Thr  
 500 505 510  
 Ile Met Ser Lys Leu Lys Val Thr Ala Ala Glu Trp Asp Thr Gly Val  
 515 520 525  
 Glu Tyr Val Cys Leu Ala Glu Gly Ser Glu Leu Pro Thr Pro Lys Lys  
 530 535 540  
 Arg Ser Thr Arg Lys Ile Lys Val Gly Ala Met Asn Ser Pro Lys Val  
 545 550 555 560  
 Tyr Ile Leu Pro Pro Ser Val Ala Glu Ile Asp Ser Glu Lys Thr Ala  
 565 570 575  
 Thr Leu Met Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Tyr Ile  
 580 585 590  
 Ala Trp Leu Ala Asn Asp Thr Leu Leu Asp Ser Asp Phe Pro Asn Gln  
 595 600 605  
 Pro Val Ser Glu Lys Gly Asn Gly Ser Ser Phe Ile Ala Ser Arg Leu  
 610 615 620  
 Arg Leu Thr Ala Ala Glu Trp Asn Thr Gly Thr Thr Tyr Ser Cys Leu  
 625 630 635 640  
 Val Gly His Pro Ser Leu Glu Arg Asn Leu Ile Arg Ser Ile Asn Lys

ES 2 701 846 T3

	645		650		655
	Ser Tyr Gly Lys Pro Thr Leu Val Asn Val Ser Leu Ala Leu Ala Asp				
	660		665		670
	Ser Phe Thr Ser Cys Ala				
	675				
	<210> 17				
5	<211> 110				
	<212> PRT				
	<213> <i>Heterodontus francisci</i>				
	<220>				
10	<223> >gil59892015 gb AAX10139.1  región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [ <i>Heterodontus francisci</i> ]				
	<400> 17				
	Ala Ser Leu Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu Thr Gly Lys				
	1	5	10		15
	Tyr Leu Asn Ile Asn Cys Val Leu Thr Asp Thr Arg Cys Gly Leu Tyr				
	20	25	30		
	Gly Thr Ser Trp Phe Arg Asn Asn Pro Gly Ser Thr Asp Trp Glu Arg				
	35	40	45		
	Ile Thr Ile Gly Arg Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Gly Ala Lys				
	50	55	60		
	Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Val Thr				
	65	70	75		80
	Tyr Tyr Cys Lys Ala Gln Thr Gly Ser Phe Pro Cys Ser Glu Gly His				
	85	90	95		
	Ser Tyr Tyr Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn				
	100	105	110		
15	<210> 18				
	<211> 143				
	<212> PRT				
	<213> <i>Ginglymostoma cirratum</i>				
20	<220>				
	<223> >gil3982965 gb AAC83733.1  receptor de antígeno [ <i>Ginglymostoma cirratum</i> ]				
	<400> 18				
	Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr				
25	1	5	10		15

ES 2 701 846 T3

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala  
20 25 30

Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ala Thr Asn Glu  
35 40 45

Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly  
50 55 60

Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser  
65 70 75 80

Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Val Ala Gly Thr Ala Cys Arg Arg Phe Asn  
85 90 95

Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Leu  
100 105 110

Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg  
115 120 125

Ala Asn Gly Phe Val Gln Leu Val Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Tyr  
130 135 140

<210> 19

- 5 <211> 103
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij|21747962|gb|AAM76235.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 19

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

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

Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile  
35 40 45

Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
50 55 60

Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr  
65 70 75 80

ES 2 701 846 T3

Arg Cys Gly Ala Ala Val Gly Gly Leu Asp Ala Ala Cys Gly Asp Gly  
85 90 95

Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
100

<210> 20

5 <211> 105  
<212> PRT  
<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij21898882|gb|AAM77162.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 20

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

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

Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile  
35 40 45

Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
50 55 60

Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr  
65 70 75 80

Arg Cys Arg Ala Phe Leu Tyr Cys Gly Ala Glu Leu Asp Ser Phe Asp  
85 90 95

Glu Tyr Gly Gly Gly Thr Ile Val Thr  
100 105

15 <210> 21

<211> 118  
<212> PRT  
<213> *Ginglymostoma cirratum*

20

<220>

<223> >gij21805800|gb|AAM76806.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 21

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Thr Val Arg Val Asp Gln Thr  
1 5 10 15

25 Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys  
20 25 30

ES 2 701 846 T3

Val Leu Arg Asp Thr Asn Cys Ala Leu Glu Gly Thr Tyr Trp Tyr Arg  
35 40 45

Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Thr Gly Arg  
50 55 60

Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile  
65 70 75 80

Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Gly Arg  
85 90 95

Arg Ser Tyr Ser Cys Val Leu Gly Pro Asp Val Glu Gly Gly Gly Thr  
100 105 110

Val Val Thr Val Asn Pro  
115

<210> 22

5 <211> 120

<212> PRT

<213> *Heterodontus francisci*

<220>

10 <223> >gij59892023|gb|AAX10143.1| región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [*Heterodontus francisci*]

<400> 22

Ala Ser Leu Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Asn Cys Val Leu Thr Asp Thr Ser His Ile Leu Phe  
20 25 30

Gly Thr Lys Trp Phe Trp Asn Asn Pro Gly Ser Thr Asp Trp Glu Ser  
35 40 45

Ile Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Asn Gln Ala Lys  
50 55 60

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

Tyr Tyr Cys Lys Ala Gln Thr Ile Gly Arg Arg Lys Gly Ala Gly Glu  
85 90 95

Leu Gly Glu His Glu Glu Leu Arg Trp Gly Thr Ser Asp Tyr Asp Gly  
100 105 110

Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn  
115 120

15

<210> 23



ES 2 701 846 T3

<211> 119  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

5

<220>  
 <223> >gi|21805822|gb|AAM76817.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 23  
 Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Ser Ala Arg Val Asp Gln  
 1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
 20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Thr Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
 35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Ser Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
 50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
 65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Val  
 85 90 95

Trp Gly Trp Ser Tyr Asp Cys Gly Ala Ala Asp Val Tyr Gly Gly Gly  
 100 105 110

Thr Val Val Thr Val Asn Pro  
 115

10

<210> 24

<211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

15

<220>  
 <223> >gi|21898926|gb|AAM77183.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

20

<400> 24  
 Ser Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Pro Ala Arg Val Asp  
 1 5 10 15

Gln Thr Pro Lys Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile  
 20 25 30

ES 2 701 846 T3

Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp  
 35 40 45

Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly  
 50 55 60

Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu  
 65 70 75 80

Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn  
 85 90 95

Pro Trp Ser Thr Cys Tyr Asp Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr  
 100 105 110

Val Asn Pro  
 115

<210> 25

5 <211> 103

<212> PRT

<213> *Orectolobus maculatus*

<220>

10 <223> >gj|21655108|gb|AAL58520.1| dominio variable de nuevo receptor de antígeno [*Orectolobus maculatus*]

<400> 25

Thr Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Thr Ser Phe Pro Leu Asn  
 20 25 30

Lys Thr Tyr Trp Tyr Arg Arg Phe Ser Ser Thr Asn Glu Gln His Ile  
 35 40 45

Pro Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Lys Arg Ser Lys Ser  
 50 55 60

Phe Ser Leu Arg Ile Ser Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Arg Cys Gly Ala Tyr Asn Leu Ser Gly Ile Tyr Tyr Ser Trp Gly Ala  
 85 90 95

Gly Thr Ala Leu Thr Val Lys  
 100

15 <210> 26

<211> 111

ES 2 701 846 T3

<212> PRT  
 <213> *Orectolobus maculatus*

<220>

5 <223> >gi|52696108|pub|1VER|A Cadena A, estructura de dominio variable de nuevo receptor de antígeno de tiburones [*Orectolobus maculatus*]

<400> 26

Ala Trp Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Gly Leu Glu  
 20 25 30

Ser Thr Gly Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu Gln Thr  
 35 40 45

Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Lys Gly Ser Lys  
 50 55 60

Ser Phe Ser Leu Arg Ile Arg Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser Gly Thr  
 65 70 75 80

Tyr Lys Cys Gly Ala Phe Arg Phe Trp Leu Pro Tyr Gly Tyr Gly Ser  
 85 90 95

Leu Pro Leu Ser Glu Lys Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Lys  
 100 105 110

10

<210> 27

<211> 141

<212> PRT

15 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

<223> >gi|3986584|gb|AAC84086.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

20 <400> 27

Asp Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser  
 20 25 30

Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
 35 40 45

ES 2 701 846 T3

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
 50 55 60

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

Tyr Arg Cys Lys Val Leu Gly Gly Cys Trp Tyr Gly Pro Ser Ser Arg  
 85 90 95

Glu Asn Trp Ile Gly Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn  
 100 105 110

Pro Gly Ile Pro Leu Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala  
 115 120 125

Thr Glu Glu Gln Arg Ala Asn Gly Phe Val Gln Leu Val  
 130 135 140

<210> 28

5 <211> 138

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij3983003|gb|AAC83752.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 28

Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser  
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser  
 20 25 30

Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile  
 35 40 45

Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
 50 55 60

Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Arg Cys Asn Val Gln Tyr Met Tyr Cys Tyr Asp Val Tyr Gly Gly Gly  
 85 90 95

Thr Val Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Leu Ser Pro Pro Ile Val  
 100 105 110

Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg Ala Asn Gly Phe Val

ES 2 701 846 T3

115 120 125

Gln Leu Val Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Tyr  
130 135

<210> 29

5 <211> 167  
<212> PRT  
<213> *Orectolobus maculatus*

<220>  
10 <223> >gij15420366|gb|AAK97360,1| nuevo receptor de antígeno [*Orectolobus maculatus*]

<400> 29  
Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val  
1 5 10 15

Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr  
20 25 30

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Thr Ser Cys Ala  
35 40 45

Phe Ser Ser Thr Gly Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu  
50 55 60

Gln Ser Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Lys Gly  
65 70 75 80

Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Ser Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser  
85 90 95

Gly Thr Tyr Lys Cys Gln Ala Tyr Val Ile Ala Thr Met Ala Pro Leu  
100 105 110

Cys Tyr Ala Ser Tyr Ser Trp Asn Glu Lys Gly Ala Gly Thr Val Leu  
115 120 125

Thr Val Lys Pro Gly Val Gln Pro Ser Pro Pro Val Ile Ser Leu Leu  
130 135 140

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

Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Tyr  
165

15 <210> 30  
<211> 109  
<212> PRT

ES 2 701 846 T3

<213> *Heterodontus francisci*

<220>

<223> >gij59892029|gb|AAX10146.1| región variable de inmunoglobulina NAR [*Heterodontus francisci*]

5

<400> 30

Ala Ser Leu Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Val Ser Cys Ala Pro Val Asp Ala Arg Tyr Gly Ser Tyr  
20 25 30

Asn Thr Thr Trp Tyr Arg Asn Lys Pro Gly Ser Thr Asp Arg Glu His  
35 40 45

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

Ala Val Lys Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Leu Thr Val Glu Asp  
65 70 75 80

Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Lys Thr Ser Leu Ile Asp Ser Thr Ile Leu  
85 90 95

Tyr Ala Leu Asp Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Asn  
100 105

<210> 31

10

<211> 113

<212> PRT

<213> *Heterodontus francisci*

15

<220>

<223> >gij59892025|gb|AAX10144.1| región variable de inmunoglobulina NAR, parcial [*Heterodontus francisci*]

<400> 31

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Arg Glu Thr Gly Lys  
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Asn Cys Val Leu Val Asp Ala Ser Cys Gly Leu Ser  
20 25 30

Gly Thr Ser Trp Phe Arg Asn Asn Pro Gly Ser Thr Asp Trp Glu Arg  
35 40 45

Ile Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Gly Ala Lys  
50 55 60

ES 2 701 846 T3

Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Val Thr  
65 70 75 80

Tyr Tyr Cys Arg Ala Gln Thr Ser Val Glu Leu Gly Met Gly Pro Arg  
85 90 95

Ala Cys Glu Val Gly Tyr Ser His Tyr Tyr Asp Gly Ala Gly Thr Val  
100 105 110

Asp

<210> 32

5 <211> 109

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gi|25987461|gb|AAN75857.1|AF447101\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 32

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
50 55 60

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

Tyr Arg Cys Gly Ala Arg Ala Gly Gly Pro Phe Leu Cys Ser Cys Val  
85 90 95

Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn  
100 105

15 <210> 33

<211> 121

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

20

<220>

<223> >gi|21898887|gb|AAM77164.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 33

ES 2 701 846 T3

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Val  
85 90 95

Gly Gly Gly Tyr Pro Leu Trp Arg Arg Gly Tyr Asp Val Tyr Gly Gly  
100 105 110

Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro Gly  
115 120

<210> 34

- 5 <211> 114
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij21898924|gb|AAM77182.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 34

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

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





ES 2 701 846 T3

<220>

<223> >gij21539902|gb|AAM52938.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

5

<400> 36

Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu  
1 5 10 15

Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys  
20 25 30

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

Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp  
65 70 75 80

Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Val Asp Arg Ile Gly Ser Trp Tyr Gly  
85 90 95

Asp Cys His Trp Asp Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val  
100 105

<210> 37

10

<211> 673

<212> PRT

<213> *Triakis scyllium*

<220>

15 <223> >gij307685089|dbj|BAJ20186.1| inmunoglobulina NAR [*Triakis scyllium*]

<400> 37

Met His Ile Phe Trp Ala Ala Leu Leu Leu Thr Trp Leu Ser Asn Ala  
1 5 10 15

Phe Ser Ala His Val Asp Gln Thr Pro Arg Val Ala Thr Lys Gly Thr  
20 25 30

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Gly Ala Arg Asn Gly  
35 40 45

Leu Tyr Ala Thr Ser Trp Phe Arg Gln Asn Pro Gly Ser Thr Gly Trp  
50 55 60

Glu Arg Met Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Ile Glu Ser Val Thr Lys Gly



ES 2 701 846 T3

Ser Ser Thr Pro Val Ser Lys His Thr Gln Lys Leu Lys Val Lys Pro  
 325 330 335

Ser Lys Pro Asn Leu Arg Leu Leu Pro Pro Ser Ala Glu Glu Leu Gln  
 340 345 350

Ser Ser Ser Val Ala Thr Leu Thr Cys Leu Ile Arg Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Asp Lys Ile Ser Ile Ser Trp Glu Lys Asp Gly Ala Val Leu Ser Ser  
 370 375 380

Asn Ile Thr Arg Phe Pro Thr Ala Leu Glu Gln Asp Gln Thr Phe Ser  
 385 390 395 400

Thr Ser Ser Leu Leu Ile Leu Pro Ala Gly Glu Trp Lys Thr Gly Ala  
 405 410 415

Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Ser His Pro Ala Thr Lys Phe Thr Gly Lys  
 420 425 430

Arg Thr Ile Asn Ser Pro Lys Ala Asp Cys Tyr Glu Glu Asp Ile Ser  
 435 440 445

Val Asn Ile Leu Asn Pro Ser Phe Glu Glu Ile Trp Ile Gln Lys Thr  
 450 455 460

Ala Thr Ile Val Cys Glu Ile Arg Tyr Thr Val Leu Glu Asn Val Ser  
 465 470 475 480

Val Ser Trp Gln Val Asp Gly Arg Met Arg Thr Glu Gly Val Glu Thr  
 485 490 495

Gln Thr Pro Glu Trp Ser Gly Ser Lys Thr Thr Ile Met Ser Lys Leu  
 500 505 510

Lys Ala Thr Ala Ala Glu Trp Asp Thr Gly Val Glu Tyr Val Cys Leu  
 515 520 525

Ala Glu Gly Ser Glu Leu Pro Thr Pro Lys Lys Arg Ser Thr Arg Lys  
 530 535 540

Ile Lys Val Gly Ala Met Asn Ser Pro Lys Val Tyr Ile Leu Pro Pro  
 545 550 555 560

Ser Val Ala Glu Ile Asp Ser Glu Lys Thr Ala Thr Leu Met Cys Leu  
 565 570 575

ES 2 701 846 T3

Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Tyr Ile Ala Trp Leu Ala Asn  
580 585 590

Asp Thr Leu Leu Asp Ser Asp Phe Pro Asn Gln Pro Val Ser Glu Lys  
595 600 605

Gly Asn Gly Ser Ser Phe Ile Ala Ser Arg Leu Arg Leu Thr Ala Ala  
610 615 620

Glu Trp Asn Thr Gly Thr Thr Tyr Ser Cys Leu Val Gly His Pro Ser  
625 630 635 640

Leu Glu Arg Asn Leu Ile Arg Ser Ile Asn Lys Ser Tyr Gly Lys Pro  
645 650 655

Thr Leu Val Asn Val Ser Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Thr Ser Cys  
660 665 670

Ala

<210> 38

5 <211> 142

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij3986580|gb|AAC84084.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 38

Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys  
1 5 10 15

Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn  
20 25 30

Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr  
35 40 45

Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu  
65 70 75 80

Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Val Ala Gly Thr Val Tyr Asp Cys  
85 90 95

ES 2 701 846 T3

Lys Pro Pro Asn Trp Thr His Tyr Asn Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val  
 100 105 110

Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Leu Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu  
 115 120 125

Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg Ala Asn Gly Phe Val  
 130 135 140

<210> 39

5 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Orectolobus maculatus*

<220>

10 <223> >gij126009471|gb|ABN64030.1| dominio variable de receptor de antígeno [*Orectolobus maculatus*]

<400> 39

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

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

Ser Thr Gly Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu Gln Ser  
 35 40 45

Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Lys Gly Ser Lys  
 50 55 60

Ser Phe Ser Leu Arg Ile Ser Asp Leu Arg Val Glu Asp Arg Gly Thr  
 65 70 75 80

Tyr Lys Cys Gly Ala Ser Ala Ala Leu Ser Pro Asn Ser Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Pro Ser Cys Leu Glu Lys Gly Ala Gly Thr Ala Leu Thr Val Lys  
 100 105 110

15 <210> 40  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

20 <220>  
 <223> >gij25987459|gb|AAN75856.1|AF447100\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 40

25 Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu

ES 2 701 846 T3

```

1             5             10             15

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

Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser
      35                        40                        45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys
      50                        55                        60

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

Tyr Arg Cys Gly Val Cys Pro His Phe Ser Trp Cys Arg Leu His Glu
      85                        90                        95

Gln Cys Ala Leu Ala Gly Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn
      100                       105                       110

<210> 41

5 <211> 679
  <212> PRT
  <213> Triakis scyllium

<220>
10 <223> >gi|307685093|dbj|BAJ20188.1| immunoglobulina NAR [Triakis scyllium]

<400> 41
Met His Ile Phe Trp Ala Ala Leu Leu Leu Thr Trp Leu Ser Asn Ala
  1             5             10             15

Phe Ser Ala His Val Asp Gln Thr Pro Arg Val Ala Thr Lys Glu Thr
      20                        25                        30

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Gly Val Ser Cys Gly
      35                        40                        45

Leu Tyr Ala Thr Arg Trp Phe Arg Gln Asn Pro Gly Ser Thr Ser Trp
      50                        55                        60

Glu Arg Ile Thr Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Lys Gly
      65                        70                        75                        80

Ser Lys Ser Phe Ser Leu Gln Ile Lys Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser
      85                        90                        95

Val Thr Phe Tyr Cys Lys Ala Gln Glu Asn Thr Glu Glu Tyr Tyr Val
      100                       105                       110

```

ES 2 701 846 T3

Gly Asp Arg Arg Cys Ser Arg Ser Asn Tyr Tyr Asp Gly Thr Gly Thr  
 115 120 125  
 Val Met Thr Val Asn Pro Gly Pro Thr Pro Pro Ile Ile Asn Leu Phe  
 130 135 140  
 Ser Glu Thr Asp Glu Leu Arg Ala Lys Gly Phe Val Gln Leu Ile Cys  
 145 150 155 160  
 Leu Ile Ser Glu Tyr Lys Pro Glu Ser Ile Arg Val Ser Trp Glu Lys  
 165 170 175  
 Asn Gly Asn Ala Arg Gln Ser Gly Phe Thr Thr Thr Ser Pro Cys Lys  
 180 185 190  
 Thr Ala Lys Gly Glu Phe Gln Ser Arg Ser Ile Leu Thr Leu Pro Leu  
 195 200 205  
 Gln Glu Trp Asn Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Ser  
 210 215 220  
 Ala Thr Asn Ser Asn Lys Arg Lys Glu Ile Arg Ser Thr Ser Glu Ile  
 225 230 235 240  
 Thr Val Phe Leu Arg Asp Pro Ser Leu Glu Glu Ile Trp Ile Lys Lys  
 245 250 255  
 Thr Val Thr Leu Ile Cys Glu Val Val Ser Thr Val Pro Ser Val Val  
 260 265 270  
 Gly Ile Ser Trp Thr Val Asp Gly Lys Lys Arg Thr Glu Gly Val Gln  
 275 280 285  
 Ile Glu Gly Arg Gln Gln Gly Gln Asn Gln Tyr Leu Thr Ile Ser Arg  
 290 295 300  
 Leu Thr Ser Ser Val Glu Glu Trp Asp Arg Gly Ala Glu Tyr Asn Cys  
 305 310 315 320  
 Ser Ala Gln Gln Ser Glu Ser Ser Thr Pro Val Ser Lys His Thr Gln  
 325 330 335  
 Lys Leu Lys Val Lys Pro Ser Lys Pro Asn Leu Arg Leu Leu Pro Pro  
 340 345 350  
 Ser Ala Glu Glu Leu Gln Ser Ser Ser Val Ala Thr Leu Thr Cys Leu



ES 2 701 846 T3

355	360	365																			
Ile	Arg	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	Lys	Ile	Ser	Ile	Ser	Trp	Glu	Lys	Asp						
	370					375					380										
Gly	Ala	Val	Leu	Ser	Ser	Asn	Ile	Thr	Arg	Phe	Pro	Thr	Ala	Leu	Glu						
385					390					395					400						
Gln	Asp	Gln	Thr	Phe	Ser	Thr	Ser	Ser	Leu	Leu	Ile	Leu	Pro	Ala	Gly						
				405					410					415							
Glu	Trp	Lys	Thr	Gly	Ala	Arg	Tyr	Thr	Cys	Thr	Ala	Ser	His	Pro	Ala						
			420					425					430								
Ser	Lys	Phe	Thr	Gly	Lys	Arg	Thr	Ile	Asn	Ser	Pro	Lys	Ala	Asp	Cys						
		435					440					445									
Tyr	Glu	Glu	Asp	Ile	Ser	Val	Asn	Ile	Leu	Asn	Pro	Ser	Phe	Glu	Glu						
	450					455					460										
Ile	Trp	Val	Gln	Lys	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Cys	Glu	Ile	Arg	Tyr	Thr						
465					470					475					480						
Val	Leu	Glu	Asn	Val	Ser	Val	Ser	Trp	Gln	Val	Asp	Gly	Arg	Met	Arg						
			485						490					495							
Thr	Glu	Gly	Val	Glu	Thr	Gln	Thr	Pro	Glu	Trp	Ser	Gly	Ser	Lys	Thr						
			500					505					510								
Thr	Ile	Met	Ser	Lys	Leu	Lys	Val	Thr	Ala	Ala	Glu	Trp	Asp	Thr	Gly						
		515					520					525									
Val	Glu	Tyr	Val	Cys	Leu	Ala	Glu	Gly	Ser	Glu	Leu	Pro	Thr	Pro	Lys						
	530					535					540										
Lys	Arg	Ser	Thr	Arg	Lys	Ile	Lys	Val	Gly	Ala	Met	Asn	Ser	Pro	Lys						
545					550					555					560						
Val	Tyr	Ile	Leu	Pro	Pro	Ser	Val	Ala	Glu	Ile	Asp	Ser	Glu	Lys	Thr						
				565					570					575							
Ala	Thr	Leu	Met	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ile	Tyr						
			580					585					590								
Ile	Ala	Trp	Leu	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Leu	Asp	Ser	Asp	Phe	Pro	Asn						
		595					600					605									

ES 2 701 846 T3

Gln Pro Val Ser Glu Lys Gly Asn Gly Ser Ser Phe Ile Ala Ser Arg  
610 615 620

Leu Arg Leu Thr Ala Ala Glu Trp Asn Thr Gly Thr Thr Tyr Ser Cys  
625 630 635 640

Leu Val Gly His Pro Ser Leu Glu Arg Asn Leu Ile Arg Ser Ile Asn  
645 650 655

Lys Ser Tyr Gly Lys Pro Thr Leu Val Asn Val Ser Leu Ala Leu Ala  
660 665 670

Asp Ser Phe Thr Ser Cys Ala  
675

<210> 42

- 5 <211> 123
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij21748031|gb|AAM76269.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 42

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Ala Gly Gly Arg Phe Cys Glu Gly Arg Cys Ser Gly Pro Tyr Ala Ala  
100 105 110

Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120

- 15 <210> 43

<211> 98

ES 2 701 846 T3

<212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

5 <220>  
 <223> >gi|3986664|gb|AAC84126.1|receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 43  
 Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser  
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser  
 20 25 30

Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile  
 35 40 45

Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
 50 55 60

Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Arg Cys Lys Val Ala Gly Thr Ala Cys Arg Arg Ser Asn Val Tyr Gly  
 85 90 95

Gly Gly

10 <210> 44

<211> 143  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

15 <220>  
 <223> >gi|3982949|gb|AAC83725.1|receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 44  
 Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Met Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser  
 20 25 30

Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
 35 40 45

20 Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
 50 55 60

ES 2 701 846 T3

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

Tyr Arg Cys Lys Ala Ser Thr Gly Leu Asp Cys Arg Leu Tyr Tyr Asn  
85 90 95

Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Leu  
100 105 110

Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg  
115 120 125

Ala Asn Gly Phe Val Gln Leu Val Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Tyr  
130 135 140

<210> 45

5 <211> 119

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij21885446|gb|AAM76964.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 45

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Ala Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Met Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Phe Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Cys Trp Ser Arg Cys Asp Arg Ala Pro Val Ala Ala Cys Gly Gly Gly  
100 105 110

Thr Val Val Thr Val Asn Pro  
115

15 <210> 46

<211> 108

ES 2 701 846 T3

<212> PRT

<213> *Orectolobus maculatus*

<220>

5 <223> >gi|21069163|gb|AAM33846.1|AF466396\_1 dominio variable de nuevo receptor de antígeno [*Orectolobus maculatus*]

<400> 46

Ala Trp Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Thr Ala Cys Pro Leu Asp  
20 25 30

Ser Thr Asn Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu Gln Thr  
35 40 45

Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Ser Lys Gly Ser Lys  
50 55 60

Ser Phe Ser Leu Arg Ile Ser Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser Gly Thr  
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Lys Ala Tyr Arg Gly Cys Gly Phe Thr Arg Gly Val Glu  
85 90 95

Tyr Leu Lys Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Lys  
100 105

10

<210> 47

<211> 114

<212> PRT

15 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

<223> >gi|21898928|gb|AAM77184.1|receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

20

<400> 47

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Ala Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Glu Gly Gly  
50 55 60

ES 2 701 846 T3

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Pro  
85 90 95

Trp Ser Thr Cys Tyr Asp Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val  
100 105 110

Asn Pro

<210> 48

5 <211> 121

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij21885420|gb|AAM76954.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 48

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

Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr  
20 25 30

Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr  
35 40 45

Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys  
50 55 60

Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser  
65 70 75 80

Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys  
85 90 95

Lys Val Pro Leu Val Ile Glu Leu Glu Ile Pro Tyr Asp Val Tyr Gly  
100 105 110

Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro  
115 120

15 <210> 49

<211> 127

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

20

<220>

<223> >gij21748025|gb|AAM76266.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

ES 2 701 846 T3

<400> 49

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Asn Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Cys Ala Gly Asn Ser Cys Asp Tyr Gln Leu Cys Ser Cys Leu Tyr Ala  
100 105 110

Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro  
115 120 125

5 <210> 50

<211> 120

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

10

<220>

<223> >gi|21748015|gb|AAM76261.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 50

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

15

ES 2 701 846 T3

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Asp Leu Gly Ser Cys Gly Gly Cys Ser Arg Tyr Ala Ala Cys Gly Asp  
100 105 110

Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120

<210> 51

- 5 <211> 119
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij|21539976|gb|AAM52972.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 51

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Val  
85 90 95

Tyr Ser Trp Tyr Gly Tyr Asp Cys Ala Glu Leu Asp Val Tyr Gly Gly  
100 105 110

Gly Thr Val Val Thr Val Asn  
115

- 15 <210> 52
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

- 20 <220>



ES 2 701 846 T3

<223> >gi|21747995|gb|AAM76251.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 52

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Arg Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Ala  
85 90 95

Ala Gly Arg Tyr Ser Cys Asp Tyr Glu Leu Cys Leu Tyr Ala Ala Cys  
100 105 110

Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120

5

<210> 53

<211> 125

<212> PRT

10 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

<223> >gi|21805816|gb|AAM76814.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

15

<400> 53

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Asn Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

ES 2 701 846 T3

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Val  
85 90 95

Tyr Ala Ala Gly Ile Pro His Ser Tyr Asp Cys Ala Asn Arg Phe Tyr  
100 105 110

Asp Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro  
115 120 125

<210> 54

- 5 <211> 118
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij|21747977|gb|AAM76242.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 54

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Ser Asn Trp Cys Gly Asp Tyr Cys Ala Leu Gly Thr Tyr Ala Ala Cys  
100 105 110

Gly Asp Gly Thr Ala Val  
115

- 15 <210> 55
- <211> 123
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

- 20 <220>

ES 2 701 846 T3

<223> >gi|21539983|gb|AAM52975.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 55

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Thr  
85 90 95

Ala Gly Ala Val Thr Arg Asp Val Leu Phe Tyr Ala Ala Cys Gly Asp  
100 105 110

Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro  
115 120

5

<210> 56

<211> 121

<212> PRT

10 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

<223> >gi|21885436|gb|AAM76960.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

15

<400> 56

Ser Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp  
1 5 10 15

Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile  
20 25 30

Asn Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp  
35 40 45

Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly  
50 55 60

ES 2 701 846 T3

Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu  
65 70 75 80

Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly  
85 90 95

Val Leu Val Arg Tyr Val Thr Arg Ala Leu Pro Tyr Ala Ala Cys Gly  
100 105 110

Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120

<210> 57

- 5 <211> 109
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij25987495|gb|AAN75874.1|AF447118\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 57

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
50 55 60

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

Tyr Arg Cys Gly Val Trp Gly Gln Leu His Val Arg Cys Ala Leu Gly  
85 90 95

Asp Ala Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn  
100 105

- 15 <210> 58
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

- 20 <220>
- <223> >gij21885442|gb|AAM76962.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 58

ES 2 701 846 T3

Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr  
1 5 10 15

Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys  
20 25 30

Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr Arg  
35 40 45

Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg  
50 55 60

Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile  
65 70 75 80

Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val Leu  
85 90 95

Val Arg Tyr Val Thr Arg Ala Leu Pro Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly  
100 105 110

Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115

<210> 59

- 5 <211> 120
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij21885444|gb|AAM76963.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 59

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

ES 2 701 846 T3

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Leu Val Arg Tyr Val Thr Arg Ala Leu Pro Tyr Ala Ala Cys Gly Asp  
100 105 110

Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120

<210> 60

5 <211> 124

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij21748009|gb|AAM76258.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 60

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Ile  
85 90 95

Ala Gly Val Gly Asp Ser Cys Asp Arg Ala Val Leu Cys Phe Tyr Ala  
100 105 110

Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120

15 <210> 61

<211> 123

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

20

<220>

<223> >gij21539988|gb|AAM52977.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 61

ES 2 701 846 T3

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Val  
85 90 95

Tyr His Tyr Ser Trp Tyr Gly Pro Ile Ala Ile Glu Leu Glu Asp Val  
100 105 110

Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro  
115 120

<210> 62

- 5 <211> 119
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij|21748029|gb|AAM76268.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 62

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Val Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Thr Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Asn Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

ES 2 701 846 T3

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Arg  
85 90 95

Gly Tyr Gly Cys Ser Lys Leu Cys Ser Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly  
100 105 110

Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115

<210> 63

5 <211> 143

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij3986602|gb|AAC84095.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 63

Val Phe Thr Val Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu  
1 5 10 15

Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys  
20 25 30

Gly Phe Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Ala Ser Thr Asn  
35 40 45

Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser  
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp  
65 70 75 80

Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Gly Leu Arg Leu Ala Ser Leu Ile Val  
85 90 95

Gly Ser Trp Thr Ala Asn Trp Arg Gly Asp Leu Tyr Gly Gly Gly Thr  
100 105 110

Val Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Leu Ser Pro Pro Ile Val Ser  
115 120 125

Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg Ala Asn Gly Phe Val  
130 135 140

15 <210> 64

<211> 145

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

20

<220>



ES 2 701 846 T3

<223> >gi|699465|gb|AAB48206.1| receptor de antígeno novedoso, parcial [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 64

Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val  
1 5 10 15

Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr  
20 25 30

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala  
35 40 45

Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Pro Gly Ser Thr Asn Glu  
50 55 60

Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly  
65 70 75 80

Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Leu Glu Asp Gly  
85 90 95

Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val Tyr Ala Met Arg Phe Phe Gly Pro Thr  
100 105 110

Pro Cys Ser Cys Asp Gly Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val  
115 120 125

Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Pro Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu  
130 135 140

His  
145

5

<210> 65

<211> 122

<212> PRT

10

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

<223> >gi|21539974|gb|AAM52971.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

15

<400> 65

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Ala Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn

ES 2 701 846 T3

20

25

30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Val  
85 90 95

Tyr Gly Val Val Arg Trp Glu Leu Asn Trp Arg Cys Gly Asn Tyr Asp  
100 105 110

Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val  
115 120

<210> 66

- 5 <211> 116
- <212> PRT
- <213> secuencia artificial

<220>

- 10 <223> >gij161172318|pdb|2Z8W|C Cadena C, estructura de un complejo de IgNAR-Ama1

<400> 66

Ala Trp Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Phe Glu Leu Lys  
20 25 30

Asp Thr Gly Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu Gln Ser  
35 40 45

Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Lys Gly Ser Lys  
50 55 60

Ser Phe Ser Leu Arg Ile Ser Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser Gly Thr  
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Gln Ala Phe Tyr Ser Leu Leu Leu Arg Asp Tyr Asn Tyr  
85 90 95

Ser Leu Leu Phe Arg Gly Glu Lys Gly Ala Gly Thr Ala Leu Thr Val  
100 105 110

Lys Ala Ala Ala  
115

<210> 67

5 <211> 128  
<212> PRT  
<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij21747979|gb|AAM76243.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 67

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Asn Arg Val Ala Gly Val Thr Cys Ala Pro Gly Thr Leu Cys Ala Leu  
100 105 110

Ile Gly Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120 125

15 <210> 68

<211> 123  
<212> PRT  
<213> *Ginglymostoma cirratum*

20 <220>

<223> >gij21747983|gb|AAM76245.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 68

25 Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln



ES 2 701 846 T3

Ile Ala Gly Arg Arg Tyr Asp Cys Arg Val Thr His Asp Val Tyr Gly  
 100 105 110

Gly Gly

<210> 70

5 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gi|25987501|gb|AAN75877.1|AF447121\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 70

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
 35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
 50 55 60

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

Tyr Arg Cys Gly Val Ser Val Tyr Ser Trp Cys Pro Thr Val Thr Gly  
 85 90 95

Met Val Cys Ser Pro Tyr Ala Ala Cys Gly Gly Gly Thr Val Val Thr  
 100 105 110

Val Asn

15 <210> 71

<211> 113  
 <212> PRT  
 <213> *Orectolobus maculatus*

20 <220>  
 <223> >gi|52696109|pdb|1VES|A Cadena A, estructura de dominio variable de nuevo receptor de antígeno de tiburones [*Orectolobus maculatus*]

25 <400> 71

ES 2 701 846 T3

Ala Trp Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Phe Glu Leu Lys  
20 25 30

Asp Thr Gly Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu Gln Ser  
35 40 45

Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Lys Gly Ser Lys  
50 55 60

Ser Phe Ser Leu Arg Ile Ser Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser Gly Thr  
65 70 75 80

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

Ser Leu Leu Phe Arg Gly Glu Lys Gly Ala Gly Thr Ala Leu Thr Val  
100 105 110

Lys

<210> 72

- 5 <211> 108
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gi|21898858|gb|AAM77150.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 72

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

ES 2 701 846 T3

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Val  
 85 90 95

Leu Ala Gly Met Glu Glu Asp Phe Ile Arg Arg Trp  
 100 105

<210> 73

5 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gi|3986668|gb|AAC84128.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 73

Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser  
 1 5 10 15

Leu Thr Met Asn Cys Val Leu Arg Asp Thr Asn Cys Ala Leu Ser Ser  
 20 25 30

Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile  
 35 40 45

Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
 50 55 60

Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Arg Cys Lys Ala Ser Ala Gly Leu Asp Cys Arg Leu Tyr Tyr Asn Val  
 85 90 95

Tyr Gly Gly Gly  
 100

15 <210> 74

<211> 121  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

20

<220>

<223> >gi|21747989|gb|AAM76248.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 74

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
 1 5 10 15

25 Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
 20 25 30

ES 2 701 846 T3

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
 35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
 50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
 65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Ala Ile  
 85 90 95

Trp Cys Gly Ala Val Thr Thr Gly Cys Ala Leu Arg Ala Ala Cys Gly  
 100 105 110

Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
 115 120

<210> 75

5 <211> 120

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij21747970|gb|AAM76239.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 75

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
 1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
 20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
 35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
 50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
 65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Ala  
 85 90 95

Pro Val Tyr Ser Cys Arg Thr Cys Ala Leu Asp Ala Ala Cys Gly Asp  
 100 105 110

Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
 115 120

15

<210> 76



<211> 135  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

5

<220>  
 <223> >gij|3982935|gb|AAC83718.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 76  
 Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser  
 1 5 10 15

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

Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Asn Ile  
 35 40 45

Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
 50 55 60

Phe Ser Leu Arg Asn Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Arg Cys Gly Glu Arg Leu Val Gly Thr Arg Asp Arg Phe Tyr Ala Ala  
 85 90 95

Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Leu Ser  
 100 105 110

Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg Ala  
 115 120 125

10 Asn Arg Phe Val Gln Leu Val  
 130 135

<210> 77

15 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial

<220>  
 <223> >gij|134104489|pdb|2l26| Análisis de la estructura cristalina del dominio variable ancestral de nuevo receptor de antígeno de tiburón nodriza en complejo con lisozima

20

<400> 77  
 Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

ES 2 701 846 T3

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser  
 20 25 30

Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
 35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
 50 55 60

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

Tyr Arg Cys Lys Pro Glu Ser Arg Tyr Gly Ser Tyr Asp Ala Glu Cys  
 85 90 95

Ala Ala Leu Asn Asp Gln Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn  
 100 105 110

Ala Ala Ala His His His His His His  
 115 120

<210> 78

5 <211> 135

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij3982937|gb|AAC83719.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 78

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

Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr  
 20 25 30

Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser  
 35 40 45

Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe  
 50 55 60

Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg  
 65 70 75 80

Cys Lys Val Ser Gln Ala Gly His Gly Leu Trp Cys Arg Leu Glu Pro  
 85 90 95

ES 2 701 846 T3

Pro Asp Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro Gly Ile  
 100 105 110

Pro Leu Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu  
 115 120 125

Gln Arg Ala Asn Gly Phe Val  
 130 135

<210> 79

- 5 <211> 137
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gij3982933|gb|AAC83717.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 79

Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser  
 1 5 10 15

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

Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile  
 35 40 45

Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
 50 55 60

Phe Ser Leu Arg Val Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Ala Gly Gly Leu Ser Arg Leu Trp Gly Asn Tyr Ala  
 85 90 95

Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Pro  
 100 105 110

Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg  
 115 120 125

Ala Asn Arg Phe Val Gln Leu Val Cys  
 130 135

- 15 <210> 80
- <211> 144
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

- 20 <220>

ES 2 701 846 T3

<223> >gi|3982955|gb|AAC83728.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 80

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Met Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser  
20 25 30

Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
50 55 60

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

Tyr Arg Cys Lys Leu Val Cys Lys Cys Thr Gly Glu Arg Gly Asn Tyr  
85 90 95

Asp Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro  
100 105 110

Leu Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln  
115 120 125

Arg Ala Asn Gly Phe Val Gln Leu Val Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Tyr  
130 135 140

5

<210> 81

<211> 673

<212> PRT

10 <213> *Triakis scyllium*

<220>

<223> >gi|307685091|dbj|BAJ20187.1| inmunoglobulina NAR [*Triakis scyllium*]

15

<400> 81

Met His Ile Phe Trp Ala Ala Leu Leu Leu Thr Trp Leu Ser Asn Ala  
1 5 10 15

Phe Ser Ala His Val Asp Gln Thr Pro Arg Val Ala Thr Lys Glu Thr  
20 25 30

ES 2 701 846 T3

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

ES 2 701 846 T3

Gly Gln Asn Gln Tyr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Thr Ser Ser Val Glu  
 290 295 300

Glu Trp Asp Arg Gly Ala Glu Tyr Asn Cys Ser Ala Gln Gln Ser Glu  
 305 310 315 320

Ser Ser Thr Pro Val Ser Lys His Thr Gln Lys Leu Lys Val Lys Pro  
 325 330 335

Ser Lys Pro Asn Leu Arg Leu Leu Pro Pro Ser Ala Glu Glu Leu Gln  
 340 345 350

Ser Ser Ser Val Ala Thr Leu Thr Cys Leu Ile Arg Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Asp Lys Ile Ser Ile Ser Trp Glu Lys Asp Gly Ala Val Leu Ser Ser  
 370 375 380

Asn Ile Thr Arg Phe Pro Thr Ala Leu Glu Gln Asp Gln Thr Phe Ser  
 385 390 395 400

Thr Ser Ser Leu Leu Ile Leu Pro Ala Gly Glu Trp Lys Thr Gly Ala  
 405 410 415

Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Ser His Pro Ala Ser Lys Phe Thr Gly Lys  
 420 425 430

Arg Thr Ile Asn Ser Pro Lys Ala Asp Cys Tyr Glu Glu Asp Ile Ser  
 435 440 445

Val Asn Ile Leu Asn Pro Ser Phe Glu Glu Ile Trp Val Gln Lys Thr  
 450 455 460

Ala Thr Ile Val Cys Glu Ile Arg Tyr Thr Val Leu Glu Asn Val Ser  
 465 470 475 480

Val Ser Trp Gln Val Asp Gly Arg Met Arg Thr Glu Gly Val Glu Thr  
 485 490 495

Gln Thr Pro Glu Trp Ser Gly Ser Lys Thr Thr Ile Met Ser Lys Leu  
 500 505 510

Lys Val Thr Ala Ala Glu Trp Asp Thr Gly Val Glu Tyr Val Cys Leu  
 515 520 525

Ala Glu Gly Ser Glu Leu Pro Thr Pro Lys Lys Arg Ser Thr Arg Lys

ES 2 701 846 T3

530 535 540

Ile Lys Val Gly Ala Met Asn Ser Pro Lys Val Tyr Ile Leu Pro Pro  
 545 550 555 560

Ser Val Ala Glu Ile Asp Ser Glu Lys Thr Ala Thr Leu Met Cys Leu  
 565 570 575

Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Tyr Ile Ala Trp Leu Ala Asn  
 580 585 590

Asp Thr Leu Leu Asp Ser Asp Phe Pro Asn Gln Pro Val Ser Glu Lys  
 595 600 605

Gly Asn Gly Ser Ser Phe Ile Ala Ser Arg Leu Arg Leu Thr Ala Ala  
 610 615 620

Glu Trp Asn Thr Gly Thr Thr Tyr Ser Cys Leu Val Gly His Pro Ser  
 625 630 635 640

Leu Glu Arg Asn Leu Ile Arg Ser Ile Asn Lys Ser Tyr Gly Lys Pro  
 645 650 655

Thr Leu Val Asn Val Ser Leu Ala Leu Ala Asp Ser Phe Thr Ser Cys  
 660 665 670

Ala

<210> 82

5 <211> 140  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij3982959|gb|AAC83730.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 82

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

Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser His Ala Leu Gly Ser  
 20 25 30

Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile  
 35 40 45

Ser Thr Gly Gly Arg Tyr Val Glu Ser Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser  
 50 55 60

ES 2 701 846 T3

Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr  
65 70 75 80

Arg Cys Gly Val Cys Leu Ala Gly Gly Asn Arg Asp Tyr Cys Cys Leu  
85 90 95

Leu Ala Asn Val Ala Ser Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Thr Ser  
100 105 110

Gly Ile Pro Pro Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr  
115 120 125

Glu Glu Gln Arg Ala Asn Arg Phe Val Gln Leu Val  
130 135 140

<210> 83

5 <211> 145

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij3986596|gb|AAC84092.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 83

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

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
50 55 60

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

Tyr Arg Cys Gly Val Leu Gly Ile Thr Leu Val Ala Gly Val Glu Trp  
85 90 95

Gly Thr Asn Ser Cys Ala Leu Pro Gly Ser Tyr Ala Ala Cys Gly Asp  
100 105 110

Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Pro Ser Pro Pro Ile  
115 120 125



ES 2 701 846 T3

Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg Ala Asn Gly Phe  
 130 135 140

Val  
 145

<210> 84

5 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gj|25987449|gb|AAN75851.1|AF447095\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 84

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
 35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
 50 55 60

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

Tyr Arg Cys Gly Leu Gly Val Ala Gly Gly Tyr Cys Asp Tyr Ala Leu  
 85 90 95

Cys Ser Ser Arg Tyr Ala Glu Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val  
 100 105 110

Asn

15 <210> 85  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

<223> >gj|21748017|gb|AAM76262.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 85

25 Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Leu Thr Val Arg Val Asp Gln



ES 2 701 846 T3

Glu Leu Tyr Cys Gly Ser Glu Leu Tyr Ser Phe Asp Glu Tyr Gly Gly  
 100 105 110

Gly Thr Ile Val Thr Val Asn Pro  
 115 120

<210> 87

- 5 <211> 114
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 10 <223> >gj|25987493|gb|AAN75873.1|AF447117\_1 receptor de antígeno novedoso [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 87

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
 1 5 10 15

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
 35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
 50 55 60

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

Tyr Arg Cys Gly Val Ser Leu Gly Ala Arg Tyr Ser Cys Asp Tyr Asn  
 85 90 95

Pro Cys Ser Ser Gly Tyr Ala Ala Cys Gly Gly Gly Thr Val Val Thr  
 100 105 110

Val Asn

- 15 <210> 88
- <211> 126
- <212> PRT
- <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

- 20 <223> >gj|21885434|gb|AAM76959.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 88

ES 2 701 846 T3

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Gly  
85 90 95

Val Pro Ser Trp Ser Gly Val Thr Thr Pro Val Cys Ser Cys Gly Ile  
100 105 110

Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115 120 125

<210> 89

5 <211> 120

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gj|21885378|gb|AAM76934.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 89

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Arg Ser Val Ile Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val

ES 2 701 846 T3

85 90 95

Leu Val Arg Tyr Val Thr Arg Ala Leu Pro Tyr Ala Ala Cys Gly Asp  
 100 105 110

Gly Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
 115 120

<210> 90

5 <211> 156  
 <212> PRT  
 <213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gi|3983005|gb|AAC83753.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 90

Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro  
 1 5 10 15

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

Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys  
 35 40 45

Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Gly Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr  
 50 55 60

Val Glu Thr Val Asn Gly Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Asn  
 65 70 75 80

Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Ser His Ile  
 85 90 95

Ala Gly Ser Thr Leu Glu Leu Thr Gly Leu Gly Tyr Asp Val Tyr Gly  
 100 105 110

Gly Gly Thr Val Gly Thr Val Asn Pro Gly Ile Pro Leu Ser Pro Pro  
 115 120 125

Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu Glu Gln Arg Ala Asn Gly  
 130 135 140

Phe Val Gln Leu Val Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Tyr  
 145 150 155

15 <210> 91  
 <211> 90  
 <212> PRT

ES 2 701 846 T3

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

<223> >gi|3982975|gb|AAC83738.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

5

<400> 91

Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val  
1 5 10 15

Leu Arg Asp Ala Thr Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys  
20 25 30

Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr  
35 40 45

Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Met Arg Ile Asn  
50 55 60

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

Thr Leu Leu Trp Ile Gly Gly Gly Gly Gly  
85 90

<210> 92

10

<211> 119

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

15

<220>

<223> >gi|21885440|gb|AAM76961.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 92

Val Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr  
1 5 10 15

Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys  
20 25 30

Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr Arg  
35 40 45

Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg  
50 55 60

Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile  
65 70 75 80

Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val Leu

ES 2 701 846 T3

85 90 95

Val Arg Tyr Val Thr Arg Ala Leu Pro Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly  
100 105 110

Thr Ala Val Thr Val Asn Pro  
115

<210> 93

5 <211> 142  
<212> PRT  
<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij3986588|gb|AC84088.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 93  
Asp Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser  
35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
50 55 60

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

Tyr Arg Cys Gly Ala Pro Gly Gly Pro Ser Cys Asp Tyr Gly Pro Cys  
85 90 95

Ala Leu Gly Asp Tyr Ala Ala Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val  
100 105 110

Asn Pro Gly Ile Pro Pro Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser  
115 120 125

Ala Thr Glu Glu Gln Arg Ala Asn Arg Phe Val Gln Leu Val  
130 135 140

15 <210> 94

<211> 117  
<212> PRT  
<213> *Ginglymostoma cirratum*

20 <220>  
<223> >gij21885395|gb|AAM76942.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

ES 2 701 846 T3

<400> 94

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Met Arg  
65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Phe Arg Cys Gly Val  
85 90 95

Ser Trp Cys Gly Ser Gly Cys Asp Tyr Val Leu Ser Thr Leu Leu Pro  
100 105 110

Ala Glu Val Ala Leu  
115

5 <210> 95

<211> 118

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

10

<220>

<223> >gi|21539954|gb|AAM52962.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 95

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
50 55 60

15

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





ES 2 701 846 T3

<400> 97

Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val  
1 5 10 15

Phe Thr Val Arg Val Asp Gln Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr  
20 25 30

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala  
35 40 45

Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu  
50 55 60

Glu Lys Val Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly  
65 70 75 80

Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser  
85 90 95

Gly Thr Tyr Arg Cys Lys Thr Gly Met Leu His Asp Cys Asp Trp Ser  
100 105 110

Asp Tyr Asp Val Tyr Gly Gly Gly Thr Val Val Thr Val Asn Pro Gly  
115 120 125

Ile Pro Leu Ser Pro Pro Ile Val Ser Leu Leu His Ser Ala Thr Glu  
130 135 140

Glu Gln Arg Ala Asn Gly Phe Val Gln Leu Val Cys Leu Ile  
145 150 155

5 <210> 98

<211> 108

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

10

<220>

<223> >gij|21898842|gb|AAM77142.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 98

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
1 5 10 15

15

Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
20 25 30

ES 2 701 846 T3

Cys Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr  
 35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
 50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
 65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Gly Gly Thr Tyr Arg Cys Gly Val  
 85 90 95

Ala Gly Val Arg Cys Asp Tyr Val Leu Tyr Ala Ala  
 100 105

<210> 99

5 <211> 107

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

<220>

10 <223> >gij21805883|gb|AAM76843.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 99

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
 1 5 10 15

Thr Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
 20 25 30

Cys Val Leu Arg Asp Ser Asn Cys Ala Leu Ser Ser Thr Tyr Trp Tyr  
 35 40 45

Arg Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly  
 50 55 60

Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
 65 70 75 80

Ile Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Tyr Arg Cys Asn Val  
 85 90 95

Ser Leu Arg Glu Cys Trp Gly Tyr Asp Val Tyr  
 100 105

15 <210> 100

<211> 115

<212> PRT

<213> *Ginglymostoma cirratum*

20

<220>

ES 2 701 846 T3

<223> >gi|21539947|gb|AAM52959.1| receptor de antígeno [*Ginglymostoma cirratum*]

<400> 100

Leu Leu Ala Leu Leu Pro Tyr Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr  
1 5 10 15

Pro Gln Thr Ile Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys  
20 25 30

Val Leu Arg Asp Ala Ser Tyr Ala Leu Gly Ser Thr Cys Trp Tyr Arg  
35 40 45

Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asn Glu Glu Ser Ile Ser Lys Gly Gly Arg  
50 55 60

Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys Ser Phe Ser Met Arg Ile  
65 70 75 80

Asn Asp Leu Thr Val Glu Asp Ser Gly Thr Phe Arg Cys Gly Val Trp  
85 90 95

Cys Gly Ser Gly Asp Tyr Pro Cys Ala Leu Asp Ser Ala Ala Cys Gly  
100 105 110

Gly Gly Thr  
115

5

<210> 101

<211> 113

<212> PRT

10 <213> secuencia artificial

<220>

<223> >1SQ2:N|PDBID|CHAIN|SEQUENCE (5A7)

15

<400> 101

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ser Val Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

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

Ser Thr Cys Trp Tyr Arg Lys Lys Ser Gly Glu Gly Asn Glu Glu Ser  
35 40 45

Ile Ser Lys Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Ser Gly Ser Lys  
50 55 60

ES 2 701 846 T3

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

Tyr Arg Cys Gly Leu Gly Val Ala Gly Gly Tyr Cys Asp Tyr Ala Leu  
85 90 95

Cys Ser Ser Arg Tyr Ala Glu Cys Gly Asp Gly Thr Ala Val Thr Val  
100 105 110

Asn

<210> 102

5 <211> 167

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

10 <223> Nuevo receptor de antígeno (*Orectolobus*) Q90XW8\_9CHON, secuencia de aminoácidos (clon 7E-80 de *Orectolobus maculatus*, nuevo receptor de antígeno)

<400> 102

Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val  
1 5 10 15

Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr  
20 25 30

Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Thr Ser Cys Ala  
35 40 45

Phe Ser Ser Thr Gly Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu  
50 55 60

Gln Ser Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Val Glu Thr Val Asn Lys Gly  
65 70 75 80

Ser Lys Ser Phe Ser Leu Arg Ile Ser Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser  
85 90 95

Gly Thr Tyr Lys Cys Gln Ala Tyr Val Ile Ala Thr Met Ala Pro Leu  
100 105 110

Cys Tyr Ala Ser Tyr Ser Trp Asn Glu Lys Gly Ala Gly Thr Val Leu  
115 120 125

Thr Val Lys Pro Gly Val Gln Pro Ser Pro Pro Val Ile Ser Leu Leu  
130 135 140

ES 2 701 846 T3

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

Cys Leu Ile Ser Gly Tyr Tyr  
 165

<210> 103

5 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial

<220>

10 <223> Secuencia de aminoácidos del péptido señal alfa (de pCLS22370)

<400> 103

Met Ala Pro Ala Met Glu Ser Pro Thr Leu Leu Cys Val Ala Leu Leu  
 1 5 10 15

Phe Phe Ala Pro Asp Gly Val Leu Ala  
 20 25

15 <210> 104

<211> 18  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial

20

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de péptido señal (de Q90XW8\_9CHON)

<400> 104

Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val  
 1 5 10 15

25 Phe Thr

<210> 105

<211> 719

30 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VNAR-CAR2 quimérico

35

<400> 105

Met Ala Pro Ala Met Glu Ser Pro Thr Leu Leu Cys Val Ala Leu Leu  
 1 5 10 15

Phe Phe Ala Pro Asp Gly Val Leu Ala Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser  
 20 25 30

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln

ES 2 701 846 T3

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

ES 2 701 846 T3

Val Leu Glu Ile Ser Pro Gln Glu Val Ser Ser Gly Arg Leu Leu Lys  
 290 295 300

Ser Ala Ser Ser Pro Pro Leu His Thr Trp Leu Thr Val Leu Lys Lys  
 305 310 315 320

Glu Gln Glu Phe Leu Gly Val Thr Gln Ile Leu Thr Ala Met Ile Cys  
 325 330 335

Leu Cys Phe Gly Thr Val Val Cys Ser Val Leu Asp Ile Ser His Ile  
 340 345 350

Glu Gly Asp Ile Phe Ser Ser Phe Lys Ala Gly Tyr Pro Phe Trp Gly  
 355 360 365

Ala Ile Phe Phe Ser Ile Ser Gly Met Leu Ser Ile Ile Ser Glu Arg  
 370 375 380

Arg Asn Ala Thr Tyr Leu Val Arg Gly Ser Leu Gly Ala Asn Thr Ala  
 385 390 395 400

Ser Ser Ile Ala Gly Gly Thr Gly Ile Thr Ile Leu Ile Ile Asn Leu  
 405 410 415

Lys Lys Ser Leu Ala Tyr Ile His Ile His Ser Cys Gln Lys Phe Phe  
 420 425 430

Glu Thr Lys Cys Phe Met Ala Ser Phe Ser Thr Glu Ile Val Val Met  
 435 440 445

Met Leu Phe Leu Thr Ile Leu Gly Leu Gly Ser Ala Val Ser Leu Thr  
 450 455 460

Ile Cys Gly Ala Gly Glu Glu Leu Lys Gly Asn Lys Val Pro Glu Lys  
 465 470 475 480

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg  
 485 490 495

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro  
 500 505 510

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr  
 515 520 525

Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro  
 530 535 540



ES 2 701 846 T3

Gly Pro Met Ile Pro Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val Glu  
545 550 555 560

Gln Ala Ala Ala Leu Gly Glu Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala  
565 570 575

Ile Leu Phe Leu Tyr Gly Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu  
580 585 590

Lys Ile Gln Val Arg Lys Ala Ala Ile Thr Ser Tyr Glu Lys Ser Arg  
595 600 605

Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln  
610 615 620

Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp  
625 630 635 640

Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro  
645 650 655

Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp  
660 665 670

Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg  
675 680 685

Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr  
690 695 700

Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
705 710 715

<210> 106

- 5 <211> 918
- <212> PRT
- <213> secuencia artificial

<220>

- 10 <223> VNAR-CAR3 quimérico

<400> 106

Met Ala Pro Ala Met Glu Ser Pro Thr Leu Leu Cys Val Ala Leu Leu  
1 5 10 15

Phe Phe Ala Pro Asp Gly Val Leu Ala Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser  
20 25 30

ES 2 701 846 T3

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

ES 2 701 846 T3

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 290 295 300  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 305 310 315 320  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 325 330 335  
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 340 345 350  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 355 360 365  
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 370 375 380  
 Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe Phe Ile Pro Leu Leu Val Val Ile  
 385 390 395 400  
 Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly Leu Phe Ile Ser Thr Gln Gln Gln Val  
 405 410 415  
 Thr Phe Leu Leu Lys Ile Lys Arg Thr Arg Lys Gly Phe Arg Leu Leu  
 420 425 430  
 Asn Pro His Pro Lys Pro Asn Pro Lys Asn Asn Arg Ala Glu Gly Arg  
 435 440 445  
 Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met  
 450 455 460  
 Asp Thr Glu Ser Asn Arg Arg Ala Asn Leu Ala Leu Pro Gln Glu Pro  
 465 470 475 480  
 Ser Ser Val Pro Ala Phe Glu Val Leu Glu Ile Ser Pro Gln Glu Val  
 485 490 495  
 Ser Ser Gly Arg Leu Leu Lys Ser Ala Ser Ser Pro Pro Leu His Thr  
 500 505 510  
 Trp Leu Thr Val Leu Lys Lys Glu Gln Glu Phe Leu Gly Val Thr Gln  
 515 520 525  
 Ile Leu Thr Ala Met Ile Cys Leu Cys Phe Gly Thr Val Val Cys Ser  
 530 535 540

ES 2 701 846 T3

Val Leu Asp Ile Ser His Ile Glu Gly Asp Ile Phe Ser Ser Phe Lys  
545 550 555 560

Ala Gly Tyr Pro Phe Trp Gly Ala Ile Phe Phe Ser Ile Ser Gly Met  
565 570 575

Leu Ser Ile Ile Ser Glu Arg Arg Asn Ala Thr Tyr Leu Val Arg Gly  
580 585 590

Ser Leu Gly Ala Asn Thr Ala Ser Ser Ile Ala Gly Gly Thr Gly Ile  
595 600 605

Thr Ile Leu Ile Ile Asn Leu Lys Lys Ser Leu Ala Tyr Ile His Ile  
610 615 620

His Ser Cys Gln Lys Phe Phe Glu Thr Lys Cys Phe Met Ala Ser Phe  
625 630 635 640

Ser Thr Glu Ile Val Val Met Met Leu Phe Leu Thr Ile Leu Gly Leu  
645 650 655

Gly Ser Ala Val Ser Leu Thr Ile Cys Gly Ala Gly Glu Glu Leu Lys  
660 665 670

Gly Asn Lys Val Pro Glu Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile  
675 680 685

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp  
690 695 700

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu  
705 710 715 720

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala  
725 730 735

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro Met Ile Pro Ala Val Val Leu  
740 745 750

Leu Leu Leu Leu Leu Val Glu Gln Ala Ala Ala Leu Gly Glu Pro Gln  
755 760 765

Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu Phe Leu Tyr Gly Ile Val Leu  
770 775 780

Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile Gln Val Arg Lys Ala Ala Ile



ES 2 701 846 T3

Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu Gln Ser Ile Ser Ile Gly Gly  
85 90 95

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

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

Tyr Val Ile Ala Thr Met Ala Pro Leu Cys Tyr Ala Ser Tyr Ser Trp  
130 135 140

Asn Glu Lys Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Lys Thr Thr Thr Pro  
145 150 155 160

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu  
165 170 175

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His  
180 185 190

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Phe Ile Pro Leu Leu Val  
195 200 205

Val Ile Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly Leu Phe Ile Ser Thr Gln Gln  
210 215 220

Gln Val Thr Phe Leu Leu Lys Ile Lys Arg Thr Arg Lys Gly Phe Arg  
225 230 235 240

Leu Leu Asn Pro His Pro Lys Pro Asn Pro Lys Asn Asn Arg Ala Glu  
245 250 255

Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly  
260 265 270

Pro Met Asp Thr Glu Ser Asn Arg Arg Ala Asn Leu Ala Leu Pro Gln  
275 280 285

Glu Pro Ser Ser Val Pro Ala Phe Glu Val Leu Glu Ile Ser Pro Gln  
290 295 300

Glu Val Ser Ser Gly Arg Leu Leu Lys Ser Ala Ser Ser Pro Pro Leu  
305 310 315 320

His Thr Trp Leu Thr Val Leu Lys Lys Glu Gln Glu Phe Leu Gly Val



ES 2 701 846 T3

Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu Phe Leu Tyr Gly Ile  
580 585 590

Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile Gln Val Arg Lys Ala  
595 600 605

Ala Ile Thr Ser Tyr Glu Lys Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala  
610 615 620

Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu  
625 630 635 640

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly  
645 650 655

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu  
660 665 670

Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser  
675 680 685

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly  
690 695 700

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu  
705 710 715 720

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
725

<210> 108

- 5 <211> 370
- <212> PRT
- <213> secuencia artificial

<220>

- 10 <223> VNAR-CAR5 quimérico

<400> 108

Met Ala Pro Ala Met Glu Ser Pro Thr Leu Leu Cys Val Ala Leu Leu  
1 5 10 15

Phe Phe Ala Pro Asp Gly Val Leu Ala Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser  
20 25 30

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
35 40 45

Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn



ES 2 701 846 T3

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

ES 2 701 846 T3

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu  
305 310 315 320

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly  
325 330 335

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser  
340 345 350

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro  
355 360 365

Pro Arg  
370

<210> 109

5 <211> 569

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

10 <223> VNAR-CAR6 quimérico

<400> 109

Met Ala Pro Ala Met Glu Ser Pro Thr Leu Leu Cys Val Ala Leu Leu  
1 5 10 15

Phe Phe Ala Pro Asp Gly Val Leu Ala Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser  
20 25 30

Val Leu Leu Ala Leu Leu Pro Asn Val Phe Thr Ala Arg Val Asp Gln  
35 40 45

Thr Pro Arg Thr Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu Ser Leu Thr Ile Asn  
50 55 60

Cys Val Leu Arg Asp Thr Ser Cys Ala Phe Ser Ser Thr Gly Trp Tyr  
65 70 75 80

Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Asn Glu Gln Ser Ile Ser Ile Gly Gly  
85 90 95

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

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

Tyr Val Ile Ala Thr Met Ala Pro Leu Cys Tyr Ala Ser Tyr Ser Trp

ES 2 701 846 T3

130                                      135                                      140  
 Asn Glu Lys Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Lys Glu Pro Lys Ser  
 145                                      150                                      155                                      160  
 Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala  
 165                                      170                                      175  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 180                                      185                                      190  
 Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 195                                      200                                      205  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 210                                      215                                      220  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 225                                      230                                      235  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 245                                      250                                      255  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 260                                      265                                      270  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 275                                      280                                      285  
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 290                                      295                                      300  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 305                                      310                                      315                                      320  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 325                                      330                                      335  
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 340                                      345                                      350  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 355                                      360                                      365  
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 370                                      375                                      380

ES 2 701 846 T3

Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly  
385 390 395 400

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys  
405 410 415

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg  
420 425 430

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro  
435 440 445

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser  
450 455 460

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu  
465 470 475 480

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg  
485 490 495

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln  
500 505 510

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr  
515 520 525

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp  
530 535 540

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala  
545 550 555 560

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
565

<210> 110

5 <211> 379  
<212> PRT  
<213> secuencia artificial

<220>

10 <223> VNAR-CAR7 quimérico

<400> 110

Met Ala Pro Ala Met Glu Ser Pro Thr Leu Leu Cys Val Ala Leu Leu  
1 5 10 15

Phe Phe Ala Pro Asp Gly Val Leu Ala Met Asn Ile Phe Leu Leu Ser

ES 2 701 846 T3

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

ES 2 701 846 T3

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr  
 275 280 285

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys  
 290 295 300

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn  
 305 310 315 320

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu  
 325 330 335

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly  
 340 345 350

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr  
 355 360 365

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
 370 375

<210> 111

5 <211> 235

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

10 <223> CH2 CH3 de bisagra de IgG1

<400> 111

Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 1 5 10 15

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr  
 65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

ES 2 701 846 T3

100 105 110  
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 115 120 125  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys  
 130 135 140  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 145 150 155 160  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 165 170 175  
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 180 185 190  
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
 195 200 205  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 210 215 220  
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys  
 225 230 235  
 <210> 112  
 5 <211> 45  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> Bisagra de CD8 alfa  
 <400> 112  
 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly  
 20 25 30  
 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp  
 35 40 45  
 15 <210> 113  
 <211> 672  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> >sp|P02786|89-760 TFR1\_HUMAN secuencia de aminoácidos de la región extracelular

ES 2 701 846 T3

<400> 113

Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr  
1 5 10 15

Glu Ser Pro Val Arg Glu Glu Pro Gly Glu Asp Phe Pro Ala Ala Arg  
20 25 30

Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp  
35 40 45

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

Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr  
65 70 75 80

Val Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp  
85 90 95

Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val  
100 105 110

Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro  
115 120 125

Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu  
130 135 140

Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr  
145 150 155 160

Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe  
165 170 175

Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu  
180 185 190

Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser  
195 200 205

Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly  
210 215 220

Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly  
225 230 235 240



ES 2 701 846 T3

Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys  
 245 250 255  
 Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp  
 260 265 270  
 Ser Thr Cys Arg Met Val Thr Ser Glu Ser Lys Asn Val Lys Leu Thr  
 275 280 285  
 Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Ile Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val  
 290 295 300  
 Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln  
 305 310 315 320  
 Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala Ala Lys Ser Gly Val Gly Thr Ala  
 325 330 335  
 Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp  
 340 345 350  
 Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly  
 355 360 365  
 Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser  
 370 375 380  
 Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val  
 385 390 395 400  
 Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr  
 405 410 415  
 Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asn Val Lys His Pro Val Thr Gly Gln  
 420 425 430  
 Phe Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr  
 435 440 445  
 Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala  
 450 455 460  
 Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr  
 465 470 475 480  
 Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu Ile Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn

ES 2 701 846 T3

485

490

495

Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys  
500 505 510

Leu Thr His Asp Val Glu Leu Asn Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser  
515 520 525

Gln Leu Leu Ser Phe Val Arg Asp Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Ile  
530 535 540

Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp  
545 550 555 560

Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu Thr Thr Asp Phe Gly Asn Ala Glu  
565 570 575

Lys Thr Asp Arg Phe Val Met Lys Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg  
580 585 590

Val Glu Tyr His Phe Leu Ser Pro Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro  
595 600 605

Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser Gly Ser His Thr Leu Pro Ala Leu  
610 615 620

Leu Glu Asn Leu Lys Leu Arg Lys Gln Asn Asn Gly Ala Phe Asn Glu  
625 630 635 640

Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly  
645 650 655

Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe  
660 665 670

<210> 114

- 5 <211> 697
- <212> PRT
- <213> secuencia artificial

<220>

- 10 <223> >sp|Q9UP52|105-801 TFR2\_HUMAN secuencia de aminoácidos de la región extracelular

<400> 114

Arg Gly Ser Cys Gln Ala Cys Gly Asp Ser Val Leu Val Val Ser Glu



ES 2 701 846 T3

Ala Asp Ile Ala Ser Arg Leu Leu Arg Lys Leu Lys Gly Pro Val Ala  
 260 265 270

Pro Gln Glu Trp Gln Gly Ser Leu Leu Gly Ser Pro Tyr His Leu Gly  
 275 280 285

Pro Gly Pro Arg Leu Arg Leu Val Val Asn Asn His Arg Thr Ser Thr  
 290 295 300

Pro Ile Asn Asn Ile Phe Gly Cys Ile Glu Gly Arg Ser Glu Pro Asp  
 305 310 315 320

His Tyr Val Val Ile Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala  
 325 330 335

Ala Lys Ser Ala Val Gly Thr Ala Ile Leu Leu Glu Leu Val Arg Thr  
 340 345 350

Phe Ser Ser Met Val Ser Asn Gly Phe Arg Pro Arg Arg Ser Leu Leu  
 355 360 365

Phe Ile Ser Trp Asp Gly Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ser Thr Glu  
 370 375 380

Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Val Leu His Leu Lys Ala Val Val Tyr  
 385 390 395 400

Val Ser Leu Asp Asn Ala Val Leu Gly Asp Asp Lys Phe His Ala Lys  
 405 410 415

Thr Ser Pro Leu Leu Thr Ser Leu Ile Glu Ser Val Leu Lys Gln Val  
 420 425 430

Asp Ser Pro Asn His Ser Gly Gln Thr Leu Tyr Glu Gln Val Val Phe  
 435 440 445

Thr Asn Pro Ser Trp Asp Ala Glu Val Ile Arg Pro Leu Pro Met Asp  
 450 455 460

Ser Ser Ala Tyr Ser Phe Thr Ala Phe Val Gly Val Pro Ala Val Glu  
 465 470 475 480

Phe Ser Phe Met Glu Asp Asp Gln Ala Tyr Pro Phe Leu His Thr Lys  
 485 490 495

Glu Asp Thr Tyr Glu Asn Leu His Lys Val Leu Gln Gly Arg Leu Pro  
 500 505 510

ES 2 701 846 T3

Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu Ile Arg  
515 520 525

Leu Ser His Asp Arg Leu Leu Pro Leu Asp Phe Gly Arg Tyr Gly Asp  
530 535 540

Val Val Leu Arg His Ile Gly Asn Leu Asn Glu Phe Ser Gly Asp Leu  
545 550 555 560

Lys Ala Arg Gly Leu Thr Leu Gln Trp Val Tyr Ser Ala Arg Gly Asp  
565 570 575

Tyr Ile Arg Ala Ala Glu Lys Leu Arg Gln Glu Ile Tyr Ser Ser Glu  
580 585 590

Glu Arg Asp Glu Arg Leu Thr Arg Met Tyr Asn Val Arg Ile Met Arg  
595 600 605

Val Glu Phe Tyr Phe Leu Ser Gln Tyr Val Ser Pro Ala Asp Ser Pro  
610 615 620

Phe Arg His Ile Phe Met Gly Arg Gly Asp His Thr Leu Gly Ala Leu  
625 630 635 640

Leu Asp His Leu Arg Leu Leu Arg Ser Asn Ser Ser Gly Thr Pro Gly  
645 650 655

Ala Thr Ser Ser Thr Gly Phe Gln Glu Ser Arg Phe Arg Arg Gln Leu  
660 665 670

Ala Leu Leu Thr Trp Thr Leu Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly  
675 680 685

Asp Val Trp Asn Ile Asp Asn Asn Phe  
690 695

<210> 115

5 <211> 108

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

10 <223> polipéptido de VNAR 12A9

<400> 115

Ala Arg Val Asp Gln Thr Pro Arg Ile Ala Thr Lys Glu Thr Gly Glu  
1 5 10 15

ES 2 701 846 T3

Ser Leu Thr Ile Asn Cys Val Leu Arg Asp Thr Ala Cys Ala Leu Asp  
20 25 30

Ser Thr Asn Trp Tyr Arg Thr Lys Leu Gly Ser Thr Lys Glu Gln Thr  
35 40 45

Ile Ser Ile Gly Gly Arg Tyr Ser Glu Thr Val Asp Glu Gly Ser Asn  
50 55 60

Ser Ala Ser Leu Thr Ile Arg Asp Leu Arg Val Glu Asp Ser Gly Thr  
65 70 75 80

Tyr Lys Cys Lys Ala Tyr Arg Arg Cys Ala Phe Asn Thr Gly Val Gly  
85 90 95

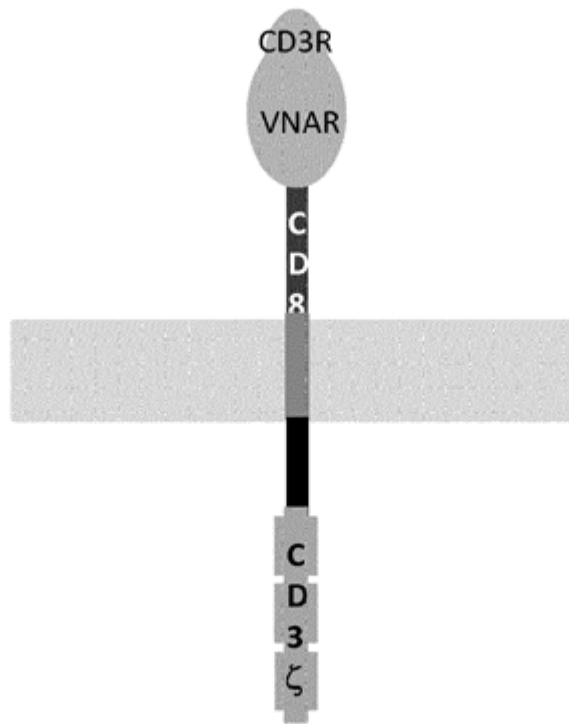
Tyr Lys Glu Gly Ala Gly Thr Val Leu Thr Val Lys  
100 105

**REIVINDICACIONES**

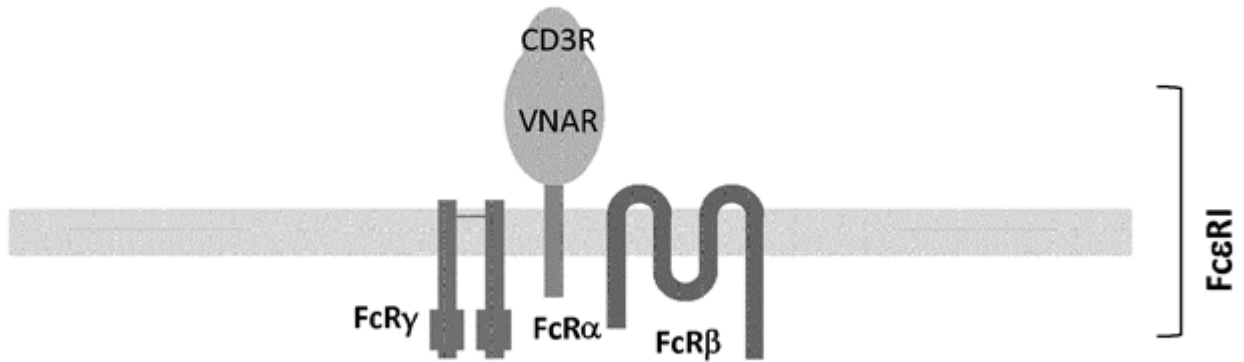
1. Receptor de antígeno quimérico (CAR) caracterizado porque comprende:
  - i) un dominio de reconocimiento de antígeno extracelular que comprende un polipéptido de VNAR; y
  - ii) un polipéptido transmembrana que comprende al menos un dominio de transducción de señales;
- 5 2. Receptor de antígeno quimérico según la reivindicación 1, en el que dicho dominio de reconocimiento de antígeno comprende sólo dos regiones determinantes de complementariedad (CDR) denominadas CDR1 y CDR3; o en el que dicho dominio de reconocimiento de antígeno tiene sólo una región determinante de complementariedad (CDR3).
- 10 3. Receptor de antígeno quimérico según la reivindicación 1 ó 2, en el que la especificidad de reconocimiento del CAR por un antígeno viene determinada por dicha CDR3.
4. Receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho CDR3 comprende al menos dos residuos de cisteína que crean enlaces disulfuro con residuos del polipéptido de VNAR.
- 15 5. Receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho CAR comprende además una región de bisagra entre su región transmembrana y su dominio de reconocimiento de antígeno extracelular.
6. Receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que todo su dominio extracelular es más corto de 150 aminoácidos.
- 20 7. Receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicho polipéptido de VNAR tiene al menos el 50% de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO. 1 a 100.
8. Receptor de antígeno quimérico según la reivindicación 7, en el que dicha secuencia de polipéptido de VNAR está humanizada.
- 25 9. Receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la región transmembrana de dicho CAR comprende un dominio de transducción de señales seleccionado del grupo que consiste en: cadena zeta de TCR, cadena de receptor de Fc, motivo de activación basado en tirosina inmunorreceptora (ITAM).
10. Receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que está bajo la forma de un CAR de una única cadena.
- 30 11. Receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que está bajo la forma de un CAR de múltiples cadenas.
12. Célula inmunitaria aislada que comprende al menos un receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
13. Célula inmunitaria aislada según la reivindicación 12, para su uso como medicamento.
- 35 14. Célula inmunitaria aislada según la reivindicación 12 ó 13, para su uso como medicamento para tratar cáncer o una enfermedad autoinmunitaria.
15. Célula inmunitaria aislada según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, para su uso como medicamento para tratar tumores líquidos.
- 40 16. Célula inmunitaria aislada según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, para su uso como medicamento para tratar tumores malignos de células B.
17. Célula inmunitaria aislada según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, para su uso como medicamento para seleccionar como diana células resistentes a fármacos que expresan canales iónicos de bombas de flujo de salida sobre su superficie, solo o en combinación con quimioterapia.







**Fig. 3**



**Fig. 4**

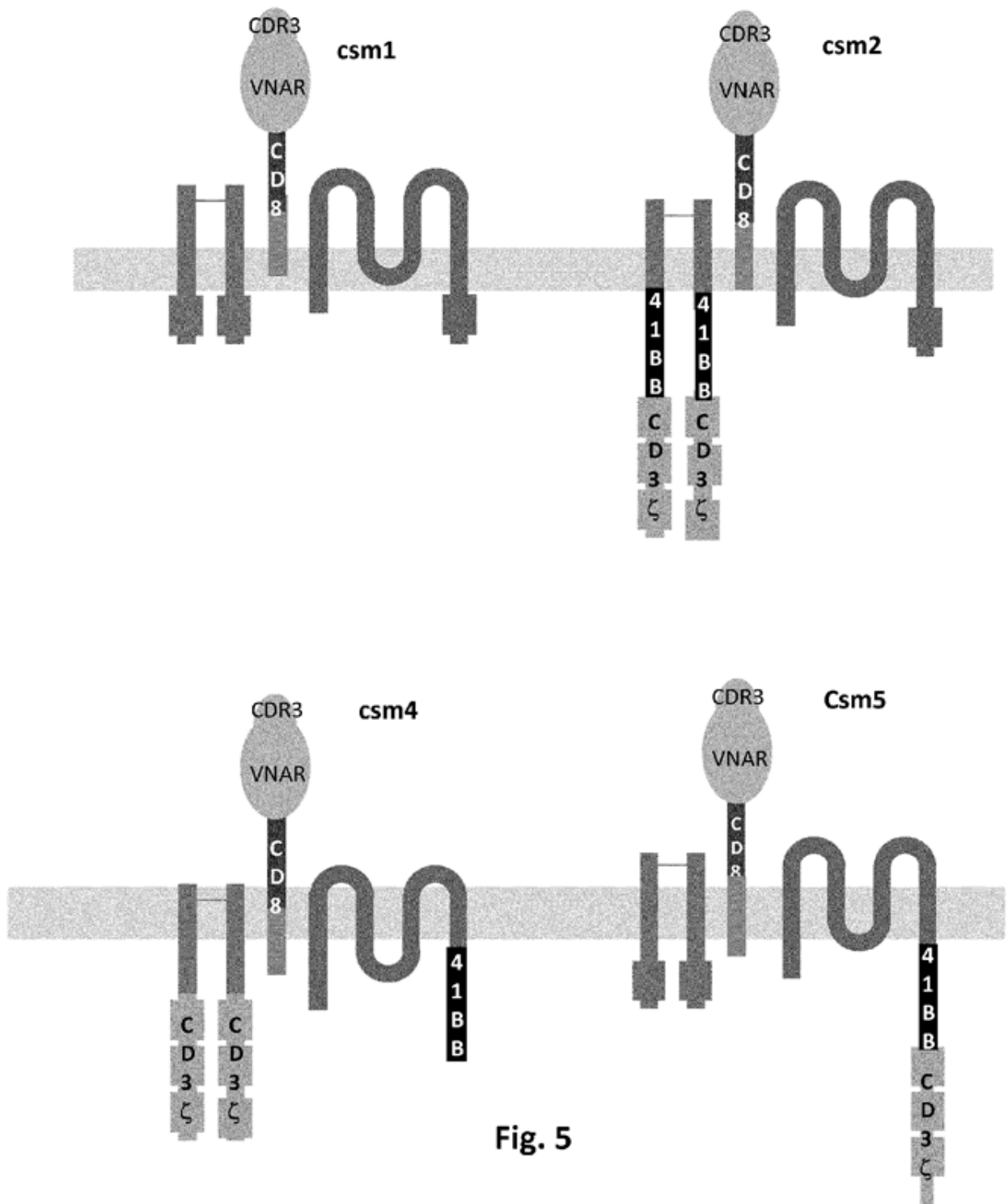


Fig. 5

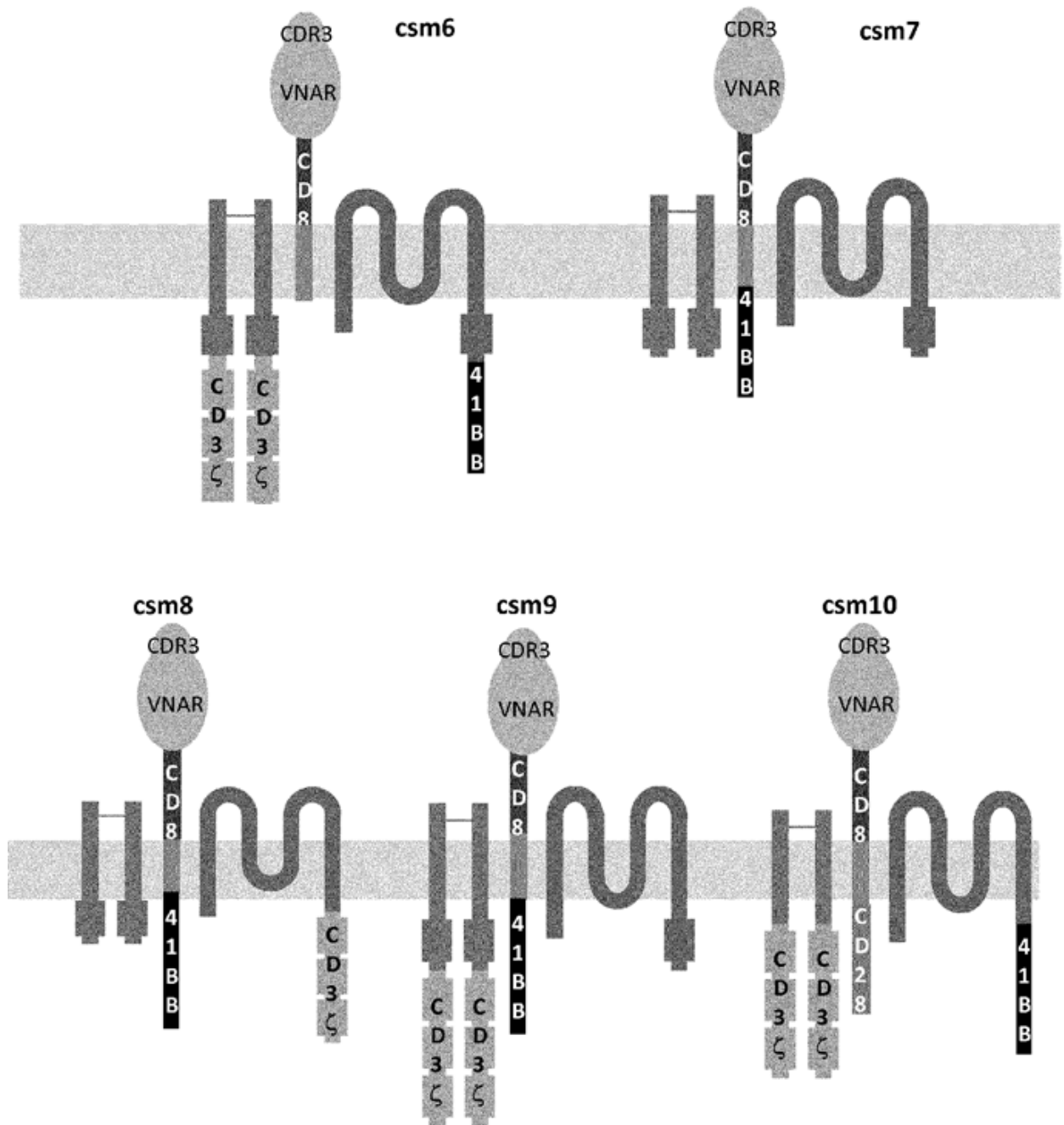


Fig. 6

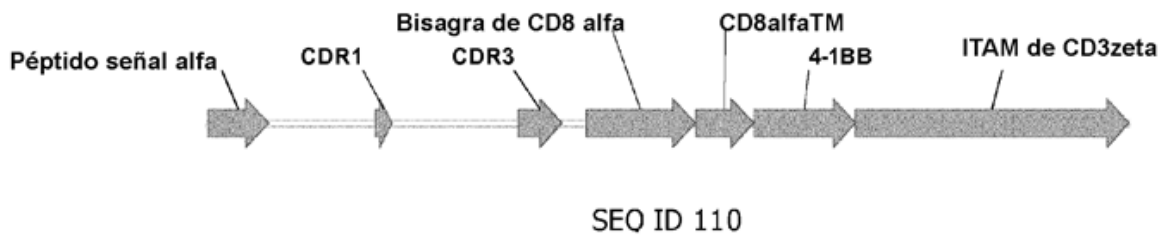


Fig. 7

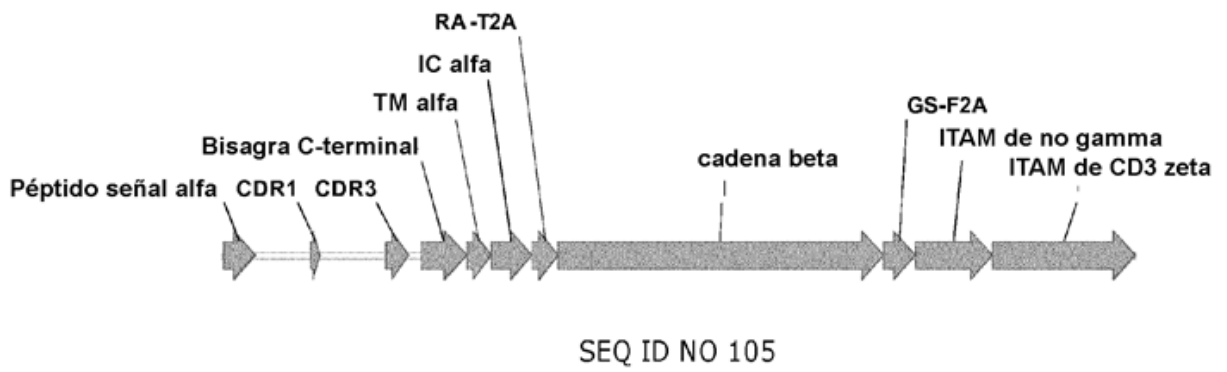


Fig. 8