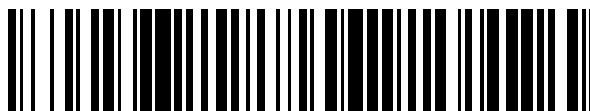


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 711 498**

51 Int. Cl.:

A61K 35/17 (2015.01)

C12N 5/0783 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.02.2015** **PCT/EP2015/053162**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.08.2015** **WO15121454**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.02.2015** **E 15706399 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018** **EP 3105317**

54 Título: **Células para inmunoterapia diseñadas mediante ingeniería genética para dirigir un antígeno presente en células inmunitarias y células patológicas**

30 Prioridad:

14.02.2014 DK 201470076

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

06.05.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

DUCHATEAU, PHILIPPE y
POIROT, LAURENT

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 711 498 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

Células para inmunoterapia diseñadas mediante ingeniería genética para dirigir un antígeno presente en células inmunitarias y células patológicas

Campo de la invención

La presente invención se refiere a métodos para desarrollar mediante ingeniería genética linfocitos T, preferentemente no alorreactivos, para inmunoterapia, que están provistos con receptores de antígenos quiméricos que se dirigen un marcador antigénico que es común a las células patológicas y a las células inmunitarias (por ejemplo: CD38).

El método comprende expresar un CAR dirigido contra dicho marcador antigénico e inactivar los genes en los linfocitos T que contribuyen a la presencia de dicho marcador antigénico sobre la superficie de dichos linfocitos T. Esta inactivación se lleva a cabo normalmente utilizando transgenes que codifican las endonucleasas guiadas por ARN (por ejemplo: Cas9/CRISPR), meganucleasas, nucleasas de dedo de cinc o nucleasas TAL. Los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética dirigen su actividad inmunitaria hacia células infectadas malignas o células inmunitarias defectivas, evitando a la vez su destrucción mutua, la autoestimulación o la agregación. La invención abre el camino a estrategias de inmunoterapia convencionales y adoptivas asequibles utilizando células inmunitarias para el tratamiento del cáncer, infecciones y enfermedades autoinmunitarias.

Antecedentes de la invención

La inmunoterapia adoptiva, que implica la transferencia de células inmunitarias específicas de antígenos autólogas generadas *ex vivo*, es una estrategia prometedora para tratar las infecciones víricas y el cáncer. Los linfocitos T utilizados para la inmunoterapia adoptiva, por ejemplo, se pueden generar tanto mediante expansión de linfocitos T específicos de antígenos como por redirección de los linfocitos T mediante ingeniería genética (Park, Rosenberg et al. 2011).

Se han generado satisfactoriamente novedosas especificidades en los linfocitos T mediante la transferencia genética de receptores de linfocitos 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 monocatenario (scFv), que comprende los fragmentos ligeros y variables de un anticuerpo monoclonal unidos mediante un enlazador flexible. Los restos de unión basados en los dominios del receptor o el ligando se han usado también satisfactoriamente. Los dominios de señalización para los CAR de primera generación se derivan de la región citoplásmica de CD3zeta o de las cadenas gamma del receptor Fc. Los CAR de primera generación se ha mostrado que redirigen satisfactoriamente la citotoxicidad de los linfocitos T, sin embargo, fracasaron en proporcionar una expansión prolongada y una actividad antitumoral *in vivo*. Los dominios de señalización procedentes de moléculas coestimuladoras que incluyen CD28, OX-40 (CD134), y 4-1BB (CD137) se han añadido solos (segunda generación) o en combinación (tercera generación) para potenciar la supervivencia y aumentar la proliferación de linfocitos T modificados por CAR. Los CAR han permitido de forma satisfactoria redirigir los linfocitos T contra antígenos expresados en la superficie de células tumorales procedentes de diversas neoplasias malignas, incluyendo linfomas y tumores sólidos (Jena, Dotti et al. 2010).

El protocolo actual para el tratamiento de pacientes utilizando inmunoterapia adoptiva se basa en la transferencia de células autólogas. En este enfoque, los linfocitos T se recuperan de pacientes, modificados genéticamente o seleccionados *ex vivo*, cultivados *in vitro* a fin de amplificar el número de células si es necesario y finalmente infundirse en el paciente. Además de la infusión de linfocitos, el hospedador puede manipularse de otras maneras que soporten el injerto de los linfocitos T o su participación en una respuesta inmunitaria, por ejemplo, el precondicionamiento (con radiación o quimioterapia) y la administración de factores de crecimiento de linfocitos (tales como IL-2). Cada paciente recibe un tratamiento fabricado individualmente, utilizando los propios linfocitos del paciente (es decir, una terapia autóloga). Las terapias autólogas se enfrentan a sustanciales obstáculos técnicos y logísticos para la aplicación práctica, su generación requiere caras instalaciones específicas y personal experto, deben generarse en un tiempo corto tras el diagnóstico de un paciente, y en muchos casos, el pretratamiento del paciente ha dado como resultado una función inmunitaria degradada, de tal manera que los linfocitos del paciente pueden ser poco funcionales y están presentes en cantidades muy bajas. Debido a estos obstáculos, la preparación de células autólogas de cada paciente es efectivamente un nuevo producto, dando como resultado variaciones sustanciales en la eficacia y la seguridad.

Idealmente, se desearía usar una terapia normalizada en la que las células terapéuticas alogénicas podría prefabricarse, caracterizarse en detalle, y estar disponible para la administración inmediata a pacientes. Por alogénico se entiende que las células se obtienen a partir de individuos que pertenecen a la misma especie pero que son genéticamente diferentes. Sin embargo, el uso de células alogénicas actualmente tiene muchos inconvenientes. En hospedadores inmunocompetentes, las células alogénicas se rechazan rápidamente, un proceso denominado rechazo de injerto contra el hospedador (HvG), y este limita sustancialmente la eficacia de las células transferidas. En hospedadores inmunocompetentes, las células alogénicas son capaces de injertarse, pero sus especificidades por los receptores endógenos de los linfocitos T (TCR) pueden reconocer el tejido hospedador como extraño, dando como

resultado la enfermedad del hospedador contra el injerto (GvHD), que puede conducir a un daño grave del tejido y a la muerte.

Con el fin de proporcionar linfocitos T alogénicos, los inventores divulgaron anteriormente un método para diseñar genéticamente linfocitos T, en el que diferentes genes efectores, en particular aquellos que codifican receptores de los linfocitos T, se inactivaron utilizando nucleasas TAL específicas, conocidas mejor bajo la marca comercial TALEN™ (Cellecristis, 8, rue de la Croix Jarry, 75013 PARIS). Este método ha demostrado ser muy eficaz en células primarias que utilizan la transfección de ARN como parte de una plataforma que permite la producción en masa de linfocitos T alogénicos (documento WO 2013/176915; Torikai et al. *Blood*, 2012, 119(24):5697-705).

CD38 (agrupación de diferenciación 38), conocida también como ADP ribosa hidrolasa cíclica es una glicoproteína que se encuentra sobre la superficie de muchas células inmunitarias (glóbulos blancos), en particular linfocitos T, incluyendo CD4+, CD8+, linfocitos B y linfocitos citotóxicos naturales. CD38 funciona también en la adhesión celular, la transducción de la señal y la señalización del calcio. La información estructural acerca de esta proteína se puede encontrar en una base de datos UniProtKB/Swiss-Prot con la referencia P28907. En seres humanos, la proteína CD38 está codificada por el gen CD38 que está localizado en el cromosoma 4. CD38 es una ectoenzima multifuncional que cataliza la síntesis y la hidrólisis de la ADP-ribosa cíclica (cADPR) procedentes de NAD⁺ a ADP-ribosa. Estos productos de reacción se consideran esenciales para la regulación del Ca²⁺ intracelular. Además, la pérdida de la función de CD38 se asoció con respuestas inmunitarias alteradas y trastornos metabólicos (Malavasi F., et al. (2008). "Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology". *Physiol. Rev.* 88(3): 841-86).

Mihara et al. (*J Immunother*, 2009, 32(7):737-743) divulgan inmunoterapia mediadora de los linfocitos T activados con un receptor quimérico contra CD38 en linfoma no de Hodgkin de linfocitos B.

Mihara et al. (*Leukemia*, 2012, 26(2):365-7) divulga inmunoterapia de linfocitos T con un receptor quimérico contra CD38 que es eficaz en la eliminación de las células de mieloma.

Por otra parte, la proteína CD38 es un marcador de la infección por VIH, leucemias, mielomas, tumores sólidos, diabetes mellitus de tipo II y metabolismo óseo, así como algunas otras dolencias determinadas genéticamente. En particular, se ha utilizado un marcador de pronóstico en la leucemia (Ibrahim, S. et al. (2001) CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 98:181-186).

Aunque, las células que expresan CD38, así como muchos otros marcadores antigénicos referidos en la Tabla 4, tales como CD70 y CS1 podrían considerarse como dianas atractivas para los CAS, el hecho de que dichos marcadores antigénicos se expresen también en la superficie de la mayoría de linfocitos T, ha impedido significativamente la selección de estos marcadores para llevar a cabo la inmunoterapia.

Los inventores aquí proporcionan estrategias para la inmunoterapia que implican células patológicas que expresan marcadores antigénicos específicos presentes también en la superficie de los linfocitos T, al igual, por ejemplo, que los linfocitos B positivos para CD38 malignos que producen leucemia, CD70 y CS1.

Sumario de la invención

La presente invención divulga métodos para diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T previstos para dirigirse a células patológicas, mientras que dichas células patológicas expresan uno o varios marcadores antigénicos que están también presentes sobre la superficie de los linfocitos T. Los Ejemplos de dichos marcadores antigénicos se encuentran en la Tabla 4. Un ejemplo de dicho marcador antigénico es CD38. Otros ejemplos son CD70 y CS1. Por marcador antigénico se entiende la proteína completa o un fragmento inmunorreactivo de la misma.

De acuerdo con la invención, los linfocitos T se diseñan mediante ingeniería genética a fin de inactivar la expresión de los genes que codifican dichos marcadores antigénicos, o que están implicados en la presentación de dicho marcador antigénico sobre la superficie de la célula.

Esta inactivación se lleva a cabo preferentemente mediante una modificación del genoma, más concretamente mediante la expresión en el linfocito T de una endonucleasa específica de corte raro capaz de dirigirse a un locus genético directa o indirectamente implicado en la producción o presentación de dicho marcador antigénico en la superficie del linfocito T. Se pueden usar diferentes tipos de endonucleasas de corte raro, tales como meganucleasas, nucleasas TAL, nucleasas de dedos de cinc (ZFN), o endonucleasas guiadas por ARN/ADN análogas a Cas9/CRISPR o Argonauta.

Los linfocitos T están dotados con al menos un receptor de antígeno quimérico (CAR) que permite una unión específica de dichas células que transportan dicho marcador antigénico dirigido.

De acuerdo con una realización, los linfocitos T se pueden diseñar mediante ingeniería genética para hacerlos alogénicos, especialmente, eliminando los genes implicados en el autoreconocimiento, tales como aquellos, por

ejemplo, que codifican los componentes de los receptores de los linfocitos T (TCR) o el complejo HLA.

La presente invención abarca las células o líneas de células aisladas que comprenden las modificaciones genéticas que se muestran en la descripción detallada, los ejemplos y las figuras, así como cualquiera de las proteínas, polipéptidos o vectores útiles para diseñar mediante ingeniería genética dichos linfocitos T.

Como resultado de la invención, los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética pueden usarse como productos terapéuticos, idealmente como un producto "disponible en existencias", en métodos para tratar o prevenir el cáncer, las infecciones o una enfermedad autoinmunitaria.

Los linfocitos T preferidos de acuerdo con la presente invención son aquellos que dan como resultado fenotipos:

- [CAR dirigiéndose a un marcador antigénico de la Tabla 4]⁺[marcador antigénico de la tabla 4]⁻ tal como los siguientes:
- [CAR CD38]⁺[CD38]⁻, preferentemente también [TCR] negativo;
- [CAR CD70]⁺[CD70]⁻, preferentemente también [TCR] negativo;
- [CAR CS1]⁺[CS1]⁻, preferentemente también [TCR] negativo; para su uso como productos terapéuticos, preferentemente alogénicos.

Breve descripción de las figuras y tablas

Figura 1: Representación esquemática de un linfocito T diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la presente invención alterado para CD38 y provisto con un receptor de antígeno quimérico (representado como un CAR monocaténario) que se dirige a una célula maligna que transporta el marcador antigénico CD38.

Figura 2: Representación esquemática de un receptor de antígeno multisubunidad.

Figura 3: Representación esquemática de una estrategia terapéutica de acuerdo con la invención que combina linfocitos T provistos con un CAR multisubunidad y un anticuerpo biespecífico en circulación. En este aspecto concreto, el receptor presente en la cadena extracelular del CAR multisubunidad está compuesto de un epítipo que es reconocido por un anticuerpo biespecífico. Se pretende que el anticuerpo biespecífico se una a dicho epítipo por una parte y el marcador antigénico por la otra para facilitar la unión del linfocito T a la célula patológica.

Figura 4: Representación esquemática de una estrategia terapéutica de acuerdo con la invención que combina linfocitos T provistos con un CAR multisubunidad y un anticuerpo monoclonal en circulación. En este aspecto concreto, el receptor presente en la cadena extracelular del CAR multisubunidad está compuesto, por ejemplo, de un receptor de Fc previsto para unirse a un anticuerpo monoclonal que se dirige contra el marcador antigénico. El anticuerpo monoclonal aumenta la oportunidad de unión de los linfocitos T a las células patológicas.

Figura 5: Representación esquemática de una estrategia terapéutica de acuerdo con la invención que combina linfocitos T provistos con un CAR multisubunidad que comprende dos dominios celulares extracelulares y un anticuerpo biespecífico en circulación. En este aspecto concreto, los dominios celulares extracelulares se localizan en distintas subunidades. Estos dominios están respectivamente compuestos de un epítipo que es reconocido por un anticuerpo biespecífico y por un receptor que se dirige a un antígeno. El receptor se dirige contra un primer marcador antigénico, mientras que el anticuerpo biespecífico se pretende que se una al epítipo y un segundo marcador antigénico. Este presenta como objetivo dirigirse selectivamente a células patológicas que transportan en su superficie el primer y el segundo marcadores antigénicos.

Figura 6: la exposición es similar a la Figura 5, pero los dominios de estimulación y coestimulación (respectivamente, los dominios de proteínas 4-1BB y CD3zeta) se han intercambiado para modular la intensidad de la activación del linfocito T resultante de la unión del receptor del antígeno quimérico con la célula patológica.

Figura 7: la exposición es similar a la Figura 5, pero los dominios de estimulación y coestimulación (respectivamente, los dominios de proteínas 4-1BB y CD3zeta) se han intercambiado, y un dominio CD3zeta se ha añadido para aumentar la intensidad de la activación del linfocito T resultante de la unión del receptor del antígeno quimérico con la célula patológica.

Figura 8: Representación esquemática de una estrategia terapéutica de acuerdo con la invención que combina linfocitos T provistos con un CAR multisubunidad que comprende dos dominios celulares extracelulares y un anticuerpo monoclonal en circulación. En este aspecto concreto, los dominios celulares extracelulares se localizan en distintas subunidades. Estos dominios están respectivamente compuestos de un dominio de unión a antígeno que se dirige a un marcador antigénico y un receptor de Fc previsto para unirse a un anticuerpo monoclonal que se dirige contra un segundo marcador antigénico. Este presenta como objetivo dirigirse selectivamente a células patológicas

que transportan en su superficie el primer y el segundo marcadores antigénicos.

Figura 9: expresión de CD38 por linfocitos T activados. **A.** Expresión de CD38 por linfocitos T en el día 6 tras la activación de perlas revestidas con CD3/CD28 + IL2. **B.** Análisis longitudinal de la expresión de CD38 por linfocitos T durante 17 días tras la activación.

Figura 10 Inactivación génica (KO) en el gen CD38: **A.** en el exón de CD38 de la secuencia 1 de 3 diferentes TALEN (T2, T4 y T5) diseñados para inactivar génicamente Cd38 en los linfocitos T. **B.** Expresión de CD38 en los linfocitos T tras la transfección con el TALEN CD38ex1_T2. **C.** Tinción de CD38 para controlar la purificación de los linfocitos T CD38 KO.

Figura 11: CD38 CAR: **A.** Representación de las 3 versiones de los CAR diseñadas. **B.** Nivel de expresión de CD38 por las líneas de células diana.

Figura 12: Experimento de sincronización para el diseño mediante ingeniería genética de los linfocitos T CAR CS1+ y KO CS1 y su posterior ensayo;

Figura 13: Construcciones de T01, T02 y T03 con las repeticiones TAL utilizadas para el gen KO de CS1;

Figura 14: Localización diana para los TAL T01, T02 y T03 en el gen CS1 (SLAMF7). T01 y T02 se dirigen al exón 1 (Figura 14A), mientras que T03 se dirige al exón 2 (Figura 14B).

Figura 15A: La medición del porcentaje de viabilidad de las células diana para TALEn transfectado o TALEn no transfectado combinado con CAR+ o células no transducidas: muestra una viabilidad celular reducida de las células CS1(+) cuando se cultivaron simultáneamente con linfocitos T CAR+, aunque no se observó impacto sobre la viabilidad de las células CS1(-).

Figura 15B: Medición del porcentaje de lisis específica de células (CS1+) calculado usando los datos de citometría de flujo. Se muestra que la lisis específica de células es 2 veces mayor cuando los linfocitos T se han transfectado con TALEn que se dirige al gen CS1 antes de la transducción de CAR.

Figura 16: Resultados del análisis FACS del experimento de actividad citotóxica, que muestra que las eficacias de transducción son mayores en células transfectadas simuladas que en células que se han transfectado con TALEn que se dirige CS1 (NTD: no transducido).

Figura 17: Resultados del análisis FACS cuando las diferentes muestras se reactivaron con perlas CD3/CD28 en DII tras la transducción, mostrando las eficacias de transducción y los niveles de expresión de CD8/CS1 en cada muestra. Se observó un aumento en los niveles de CS1 tras la reactivación en células transfectadas simuladas, mientras que una baja cantidad de células son capaces de expresar CS1 en las poblaciones transfectadas con TALEn.

Tabla 1: Programas de citopulsos diferentes utilizados para la electroporación de linfocitos T.

Tabla 2: Secuencias diana adecuadas para el ARN guía utilizando Cas9 en linfocitos T

Tabla 3: Lista de genes que codifican proteínas checkpoint inmunitarias

Tabla 4: Agrupación de marcadores antigénicos de diferenciación (CD) que se encuentra que se expresan sobre la superficie de los linfocitos T, siendo característico de diferentes tipos de tumores.

Tabla 5 a 13: Principales marcadores antigénicos superficiales expresados en linfocitos T, expresándose en exceso en células de tumores sólidos de diversos tipos de cánceres. Los marcadores antigénicos superficiales se identificaron como explicados en el Ejemplo 1.

Tabla 5: células tumorales de colon;

Tabla 6: células tumorales de mama;

Tabla 7: células tumorales del tracto digestivo;

Tabla 8: células tumorales renales;

Tabla 9: células tumorales hepáticas;

Tabla 10: células tumorales de pulmón;

Tabla 11: células tumorales de ovario;

Tabla 12: células tumorales de páncreas;

Tabla 13: células tumorales de próstata;

5 **Tabla 14:** Principales marcadores antigénicos superficiales expresados en linfocitos T, expresándose en exceso en células tumorales de fluidos de diversos tipos de cánceres (LLA, LMA, LMC, SMD, LLC, CTRL). Los marcadores antigénicos superficiales se identificaron como explicados en el Ejemplo 1.

Tabla 15: Secuencias de las dianas de CD38 y TALEN ensayadas para la inactivación de CD38;

10 **Tabla 16:** Secuencias de las dos dianas diferentes de CD38 y de las TALEN correspondientes para su inactivación;

Tabla 17: Secuencias de las cadenas VH y VL de los anticuerpos scFv dirigidos contra CD38 daratumumab y MOR202 y de los CDR específicos para las cadenas VH y VL

15 **Tabla 18:** Secuencia polipeptídica de 3 estructuras diferentes de CAR dirigidos contra CD38 basados en el scFv daratumumab y de los componentes individuales utilizados;

Tabla 19: Secuencias de VH y VL de los anticuerpos scFv dirigidos contra CS1;

20 **Tabla 20:** Secuencia polipeptídica de CAR dirigidos contra CS1 basados en las versiones V1, V2 y V3 en la Figura 11A;

Tabla 21: Secuencias de la diana CS1 y las TALEN para su inactivación;

25 **Tabla 22:** Secuencias de la diana CD70 y las TALEN para su inactivación;

Tabla 23: Secuencias de polinucleótidos y ácidos nucleicos de las cadenas de VH y VL de los scFv de los anticuerpos Ab4, Ab8, y 1F6 dirigidos contra CD70;

30 **Tabla 24:** Secuencia polipeptídica de CAR dirigidos contra CD70 basados en las versiones V1, V2 y V3 en la Figura 11A

Descripción detallada de la invención

35 Salvo que se defina específicamente en el presente documento, todos los términos técnicos y científicos utilizados tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la materia en el campo de la terapia génica, bioquímica, genética, y biología molecular.

40 Todos los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento se pueden usar en la práctica o el ensayo de la presente invención, con los métodos y materiales adecuados que se describen en el presente documento. Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en el presente documento se incorporan por referencia en su totalidad. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son únicamente
45 ilustrativos y no se pretende que sean limitantes, a menos que se especifique lo contrario.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique otra cosa, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están comprendidas en los conocimientos del experto en la materia. Tales técnicas se explican por completo en la bibliografía. Véase, 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 de EE.UU. 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 and M. Simon, eds. principales, Academic Press, Inc., Nueva York), específicamente, Vols.154 y 155 (Wu et al. eds.) y Vol. 185, "Gene Expression Technology" (D. Goeddel, ed.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, ed., Academic Press, Londres, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volúmenes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986); y Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986).

En un aspecto general, la presente invención se refiere a métodos para nuevas estrategias de inmunoterapia adoptivas en el tratamiento de enfermedades vinculadas con el desarrollo de células patológicas, tales como cáncer, infecciones
65 y enfermedades autoinmunitarias.

Como principal objetivo de la invención está la posibilidad de dirigir células patológicas que transportan marcadores antigénicos específicos en común con linfocitos T. Por célula patológica se entiende cualesquiera tipos de células presentes en un paciente, las cuales se consideran causantes del deterioro de la salud.

- 5 En general, las células patológicas son células malignas o infectadas que necesitan reducirse o eliminarse para obtener la remisión de un paciente.

En una primera realización, el método de la invención se refiere a un método ex vivo de preparar linfocitos T adecuados para inmunoterapia que comprende la etapa de:

- 10 (a) Inactivar genéticamente un gen en un linfocito T, que está implicado en la expresión o presentación de un marcador antigénico, sabiéndose que dicho marcador antigénico está presente sobre la superficie de dicho linfocito T y la célula patológica;
- 15 (b) Expresar en dicho linfocitos T un transgén que codifica un receptor de antígeno quimérico dirigido contra dicho marcador antigénico presente en la superficie de dicha célula patológica.

Los linfocitos T de acuerdo con la invención están provistos con un receptor de antígeno quimérico dirigido a un marcador antigénico que se expresa comúnmente por las células patológicas y las células inmunitarias, o conocido por estar presentes sobre la superficie de dichos linfocitos T. La expresión "conocido por estar presente" significa que se notifica que el marcador antigénico se encuentra sobre la superficie de los linfocitos T que crecen en condiciones naturales *in vivo*, especialmente en la sangre, pero no necesariamente cuando se cultivan *in vitro*. En cualquier caso, el método de la invención da como resultado la ausencia del marcador antigénico sobre la superficie del linfocito T, evitando por tanto que el receptor del antígeno quimérico reaccione con la superficie del linfocito T diseñado mediante ingeniería genética. A este respecto, el método puede incluir una etapa adicional de purificar los linfocitos T resultantes excluyendo las células que presentan dicho marcador antigénico sobre su superficie.

Como se muestra en la tabla 4, la presente invención se refiere a un número importante de candidatos de marcadores antigénicos indicados para expresarse por las células tumorales, pero también por los linfocitos T. Algunos de ellos, tales como CD38, se han usado como marcadores específicos en métodos diagnósticos durante un tiempo, especialmente con respecto a las células patológicas de la leucemia, pero no en terapia. De hecho, aunque se identificaron estos marcadores en la técnica como marcadores muy específicos, podrían no utilizarse como dianas para la inmunoterapia debido a que los anticuerpos dirigidos contra estos marcadores habrían destruido o interferido los linfocitos T del paciente. Los presentes inventores han establecido que CS1 y CD70 están también presentes sobre la superficie de los linfocitos T y que expresan que los CAR que se dirigen a CS1 y CD70 en dichos linfocitos T dan lugar a su agotamiento (véase el ejemplo 2).

De acuerdo con una realización preferida de la invención, la inactivación génica de la etapa a) del método anterior se lleva a cabo utilizando una endonucleasa de corte raro.

40 Inactivando un gen, se pretende que el gen de interés no se exprese en forma de proteína funcional. En realizaciones concretas, la modificación genética del método se basa en la expresión, en células proporcionadas para diseñar mediante ingeniería genética, de una endonucleasa de corte raro de tal manera que la misma cataliza la escisión en un gen dirigido inactivando por tanto dicho gen dirigido. La rotura de la hebra de ácido nucleico provocada por endonucleasa se repara habitualmente a través de mecanismos distintos de recombinación homóloga o por unión de extremos no homóloga (NHEJ). Sin embargo, la NHEJ es un proceso de reparación imperfecto que a menudo da como resultado cambios en la secuencia de ADN en el sitio de la escisión. Los mecanismos implican la reunión de lo que queda de los dos extremos de ADN a través de religadura directa (Critchlow y Jackson 1998) o a través de la denominada unión de extremos mediada por microhomología (Ma, Kim et al., 2003; Ma, Kim et al. 2003). la reparación a través de la unión de extremos no homóloga (NHEJ) a menudo da como resultado pequeñas inserciones o deleciones, y se puede utilizar para la creación de inactivaciones génicas específicas. Dicha modificación puede ser una sustitución, deleción, o adición de al menos un nucleótido. Las células en las que se ha producido un evento de mutagénesis inducida por escisión, es decir, un evento de mutagénesis consecutivo a un evento NHEJ, se pueden identificar y/o seleccionar por métodos bien conocidos en la materia.

55 La expresión "endonucleasa de corte raro" se refiere a una enzima natural o variante capaz de catalizar la hidrólisis (escisión) de enlaces entre ácidos nucleico en una molécula de ADN o ARN, preferentemente una molécula de ADN. Particularmente, dicha nucleasa puede ser una endonucleasa, más preferentemente una nucleasa de corte raro que es muy específica, reconociendo sitios diana de ácido nucleico que varían de 10 a 45 pares de bases (pb) de longitud, variando usualmente de 10 a 35 pares de bases de longitud, más normalmente de 12 a 20 pares de bases. La endonucleasa de acuerdo con la presente invención reconoce a secuencias de polinucleótidos específicas, denominadas adicionalmente "secuencias diana" y escinde el ácido nucleico en el interior de estas secuencias diana o en secuencias adyacentes a las mismas, dependiendo de la estructura molecular de dicha endonucleasa. La endonucleasa de corte raro puede reconocer y generar una rotura monocatenaria o bicatenaria en secuencias de polinucleótidos específicas.

En una realización concreta, dicha endonucleasa de corte raro de acuerdo con la presente invención es una endonucleasa guiada por ARN tal como el complejo Cas9/CRISPR. Las endonucleasas guiadas por ARN constituyen una nueva generación de la herramienta de diseño mediante ingeniería genética del genoma donde una endonucleasa se asocia con una molécula de ARN. En este sistema, la secuencia nucleotídica de la molécula de ARN determina la especificidad de la diana y activa la endonucleasa (Gasiunas, Barrangou et al. 2012; Jinek, Chylinski et al. 2012; Cong, Ran et al. 2013; Mali, Yang et al. 2013).

Cas 9

Cas9, denominada también Csn1 (COG3513), es una proteína grande que participa tanto en la biogénesis de ARNcr como en la destrucción del ADN invasor. Se ha descrito Cas9 en diferentes especies bacterianas tales como *S. thermophilus*, *Listeria innocua* (Gasiunas, Barrangou et al. 2012; Jinek, Chylinski et al. 2012) y *S. Pyogenes* (Deltcheva, Chylinski et al. 2011). la proteína Cas9 (>1200 aminoácidos) contiene dos dominios de nucleasa previstos, concretamente el dominio de la nucleasa HNH (análogo a McrA) que está localizado en la parte intermedia de la proteína y un dominio de la nucleasa análogo a RuvC dividido (pliegue H de la ARNasa) (Makarova, Grishin et al. (2006).

Por "Cas9" se entiende una endonucleasa diseñada mediante ingeniería genética o un homólogo de Cas9 que es capaz de procesar una secuencia de ácido nucleico diana. En una realización concreta, Cas9 puede inducir una escisión en la secuencia diana de ácido nucleico que puede corresponder tanto a una rotura bicatenaria como a una rotura monocatenaria. La variante de Cas9 puede ser una endonucleasa Cas9 que no existe naturalmente en la naturaleza y que se obtiene por diseño mediante ingeniería genética de proteínas o mediante mutagénesis aleatoria. Las variantes de Cas9 de acuerdo con la invención pueden obtenerse, por ejemplo, mediante mutaciones, es decir, delecciones de, o inserciones o sustituciones de al menos un resto en la secuencia de aminoácidos de una endonucleasa Cas9 de *S. pyogenes* (COG3513). En los aspectos del marco de la presente invención, dichas variantes de Cas9 siguen siendo funcionales, es decir, retienen la capacidad de procesar una secuencia de ácido nucleico diana. Las variantes de Cas9 pueden ser también homólogas de Cas9 de *S. pyogenes* que comprenden delecciones de, o inserciones o sustituciones de, al menos un resto en la secuencia de aminoácidos de Cas9 de *S. pyogenes*. Se puede realizar cualquier combinación de delección, inserción y sustitución para llegar a la construcción final, con la condición que la construcción final posea la actividad deseada, en particular, la capacidad de unirse a un ARN guía o secuencia de ácido nucleico diana.

El motivo RuvC/ARNasaH incluye proteínas que muestran un amplio espectro de funciones nucleolíticas, actuando tanto en ARN como en ADN (ARNasaH, RuvC, transposasas de ADN e integrasas retrovíticas, y el dominio PIWI de las proteínas Argonauta). En la presente invención, el dominio catalítico RuvC de la proteína Cas9 puede caracterizarse por el motivo de secuencia: D-[I/L]-G-X-X-S-X-G-W-A, en el que X representa uno cualquiera de los 20 aminoácidos naturales e [I/L] representa isoleucina o leucina. En otros términos, la presente invención se refiere a la variante Cas9 que comprende al menos la secuencia D-[I/L]-G-X-X-S-X-G-W-A, en el que X representa uno cualquiera de los 20 aminoácidos naturales e [I/L] representa isoleucina o leucina.

El motivo HNH es característico de muchas nucleasas que actúan sobre el ADN bicatenario, incluidas las colicinas, las enzimas de restricción y las endonucleasas de asentamiento. El dominio HNH (SMART ID: SM00507, nomenclatura SCOP: familia HNH) está asociado con una serie de proteínas de unión al ADN, que realizan una diversidad de funciones de unión y corte. Las que tienen una función conocida están implicadas en una serie de procesos celulares que incluyen la toxicidad bacteriana, funciones de asentamiento en intrones de los grupos I y II e inteínas, recombinación, reordenamiento de ADN controlado por desarrollo, empaquetamiento de fagos y actividad de endonucleasa de restricción (Dalgaard, Klar et al. 1997). Estas proteínas se encuentran en virus, arqueobacterias, eubacterias y eucariotas. Curiosamente, como con los motivos LAGLI-DADG y los GIY-YIG, el motivo HNH a menudo se asocia con dominios de endonucleasa de elementos autopropagantes como inteínas, intrones de Grupo I y Grupo II (Dalgaard, Klar et al. 1997). El dominio HNH se puede caracterizar por la presencia de un resto Asp/His conservado flanqueado por restos His (amino terminales) e His/Asp/Glu (carboxilo terminales) conservados a cierta distancia. Un número considerable de estas proteínas también puede tener un motivo CX2C en cualquier lado del resto Asp/His central. Estructuralmente, el motivo HNH aparece como una horquilla central de hojas plegadas β torsionadas, que están flanqueadas en cada lado por una hélice α (Kleanthous, Kuhlmann et al. 1999). El dominio HNH grande de Cas9 está representado por la SEQ ID NO.5. En la presente invención, el motivo HNH puede caracterizarse por el motivo de secuencia: Y-X-X-D-H-X-X-P-X-S-X-X-X-D-X-S, en el que X representa uno cualquiera de los 20 aminoácidos naturales. La presente invención se refiere a una variante de Cas9 que comprende al menos la secuencia Y-X-X-D-H-X-X-P-X-S-X-X-X-D-X-S en la que X representa uno cualquiera de los 20 aminoácidos naturales.

La presente invención puede ser de particular interés para facilitar modificaciones en el gen multiplexado dirigido y crear un sistema de nucleasa inducible mediante la introducción del ARN guía en las células Cas9. Para el fin de la presente invención, los inventores han establecido que la proteína Cas9 puede dividirse en dos dominios RuvC y HNH de Cas9 divididos separados que pueden procesar la secuencia de ácido nucleico diana juntos o por separado con el ARN guía.

También, los dominios RuvC y HNH de diferentes endonucleasas guiadas por ARN u homólogos de Cas pueden

ensamblarse para mejorar la eficacia o la especificidad de la nucleasa. Los dominios de diferentes especies pueden estar tanto divididos en dos proteínas como fusionados entre sí para formar una variante de la proteína Cas. El sistema Cas9 dividido se considera particularmente adecuado para un método inducible de direccionamiento del genoma y para evitar el efecto tóxico potencial de la expresión en exceso de Cas9 en la célula. De hecho, se puede introducir un primer dominio de Cas9 en la célula, preferentemente transformando de manera estable dicha célula con un transgén que codifica dicho dominio dividido. A continuación, la parte dividida complementaria de Cas9 puede introducirse en la célula, de tal manera que las dos partes divididas se reensamblan en la célula para reconstituir una proteína Cas9 funcional en el tiempo deseado.

La reducción del tamaño del Cas9 dividido en comparación con el Cas9 natural facilita la vectorización y la administración en la célula, por ejemplo, utilizando péptidos de penetración en células. La reordenación de dominios de diferentes proteínas Cas, permite modular la especificidad y la actividad de la nucleasa, por ejemplo, dirigiendo motivos PAM, que son ligeramente diferentes de Cas9 de *S. pyogenes*.

Sistema Cas9 dividido

La caracterización previa de los dominios RuvC and HNH ha incitado a los inventores a diseñar mediante ingeniería genética la proteína Cas9 para crear la proteína Cas9 dividida. Sorprendentemente, los inventores mostraron que estas dos Cas9 divididas podrían procesar juntas o por separado el ácido nucleico diana. Esta observación permite el desarrollo de un nuevo sistema Cas9 que utiliza la proteína Cas9 dividida. Cada uno de los dominios Cas9 divididos puede prepararse y usarse por separado. Por lo tanto, este sistema dividido presenta varias ventajas para la vectorización y la administración de la endonucleasa guiada por ARN en linfocitos T, permitiendo la administración de una proteína más corta y/o inactiva, y es particularmente adecuado para inducir el diseño mediante ingeniería genética en linfocitos T en el tiempo deseado y limitando por tanto la potencial toxicidad de una nucleasa Cas9 integrada.

Por "Cas9 dividido" se entiende aquí una forma reducida o troncada de una proteína Cas9 o variante de Cas9, que comprende tanto un dominio RuvC como un dominio HNH, pero no ambos de estos dominios. Dicho "Cas9 dividido" puede utilizarse independientemente con el ARN guía o de una manera complementaria, al igual por ejemplo que, un Cas9 dividido que proporciona un dominio RuvC y otro que proporciona el dominio HNH. Se pueden usar diferentes endonucleasas guiadas por ARN dividido junto con cualquier dominio RuvC y/o HNH.

Cada dominio de Cas9 dividido puede derivarse del mismo o de diferentes homólogos de Cas9. Se han identificado muchos homólogos de Cas9 en las bases de datos genómicas.

Dichos dominios de Cas9 divididos (dominios RuvC y HNH) pueden introducirse de forma simultánea o secuencial en la célula de tal manera que dicho(s) dominio(s) de Cas9 dividido(s) procesa(n) la secuencia de ácido nucleico en la célula. Dichos dominios de Cas9 divididos y el ARN guía pueden introducirse en la célula utilizando péptidos de penetración celular u otros métodos de transfección como se describe en otra parte en el presente documento.

En otro aspecto de la invención, solo un dominio de Cas9 dividido, denominado Cas9 compacto se introduce en dicha célula. De hecho, de forma sorprendente, los inventores mostraron que el dominio de Cas9 dividido que comprende el motivo RuvC como se ha descrito anteriormente es capaz de escindir una secuencia de ácido nucleico diana, independientemente del dominio dividido que comprende el motivo HNH. Por lo tanto, se podría establecer que el ARN guía no necesita la presencia del dominio HNH para unirse a la secuencia de ácido nucleico diana y es suficientemente estable para unirse mediante el dominio RuvC dividido. En una realización preferida, dicho dominio de Cas9 dividido solo es capaz de capturar dicha secuencia de ácido nucleico diana.

Cada dominio dividido puede fusionarse con al menos un dominio activo en el extremo N y/ el extremo C, dicho dominio activo se puede seleccionar entre el grupo que consiste en: nucleasa (por ejemplo, endonucleasa o exonucleasa), polimerasa, quinasa, fosfatasa, metilasa, desmetilasa, acetilasa, desacetilasa, topoisomerasa, integrasa, transposasa, ligasa, helicasa, recombinasa, activador de la transcripción (por ejemplo, VP64, VP16), inhibidor de la transcripción (por ejemplo; KRAB), enzima procesadora del extremo de ADN (por ejemplo, Trex2, Tdt), molécula indicadora (por ejemplo, proteínas fluorescentes, lacZ, luciferasa).

El dominio HNH es responsable de la captura de una hebra del ADN bicatenario diana y el dominio de pliegue de ARNasaH análogo a RuvC está implicado en la captura de la otra hebra (que comprende el motivo PAM) del ácido nucleico diana bicatenario (Jinek, Chylinski et al. 2012). Sin embargo, en Cas9 natural, estos dos dominios dan como resultado una escisión roma del ADN invasor dentro de la misma secuencia diana (protoespaciador) en las inmediaciones de la PAM (Jinek, Chylinski et al. 2012). Cas 9 puede ser una nickasa e induce un evento de captura en diferentes secuencias diana.

Como ejemplo no limitante, Cas9 o Cas9 dividido puede comprender una mutación (o mutaciones) en los restos catalíticos de los dominios HNH o análogos a RuvC, para inducir un evento de captura en diferentes secuencias diana. Como ejemplo no limitante, los restos catalíticos de la proteína Cas9 son aquellos correspondientes a los aminoácidos D10, D31, H840, H868, N882 y N891 o las posiciones alineadas utilizando el método CLUSTALW en homólogos de miembros de la familia Cas. Cualquiera de estos restos puede reemplazarse por cualquier otro aminoácido,

preferentemente por un resto de alanina. La mutación en los restos catalíticos significa la sustitución por otros aminoácidos, o la delección o adición de aminoácidos que inducen la inactivación de al menos un dominio catalítico de cas9. (cf. En una realización concreta, Cas9 o Cas9 dividido puede comprender una o varias de las mutaciones anteriores. En otra realización concreta, Cas9 dividido comprende solo uno de los dos dominios catalíticos RuvC y HNH. En la presente invención, se puede utilizar Cas9 de diferentes especies, homólogos de Cas9, Cas9 diseñada mediante ingeniería genética y las variantes funcionales de la misma. La invención prevé el uso de las endonucleasas guiadas por ARN o de las variantes de endonucleasas guiadas por ARN dividido para realizar la escisión del ácido nucleico en una secuencia genética de interés.

Preferentemente, las variantes de Cas9 de acuerdo con la invención tienen una secuencia de aminoácidos que comparte al menos el 70 %, preferentemente al menos un 80 %, más preferente al menos un 90%, e incluso más preferentemente un 95% de identidad con Cas9 de *S. Pyogenes* (COG3513).

Meganucleasas

La endonucleasa de corte raro puede ser también una endonucleasa de rastreo, conocida también con el nombre de meganucleasa. Dichas endonucleasas de rastreo son bien conocidas en la técnica (Stoddard 2005). Las endonucleasas de rastreo son muy específicas, reconociendo sitios diana de ADN que varían de 12 a 45 pares de bases (pb) de longitud, variando usualmente de 14 a 40 pares de bases de longitud. La endonucleasa de rastreo de acuerdo con la invención puede corresponder, por ejemplo, a una endonucleasa LAGLIDADG, a una endonucleasa HNH, o a una endonucleasa GIY-YIG. La endonucleasa de rastreo preferida de acuerdo con la presente invención puede ser una variante I-CreI. Una "variante" de endonucleasa, es decir, una endonucleasa que no existe naturalmente en la naturaleza y se obtiene por diseño mediante ingeniería genética o por mutagénesis aleatoria puede unir secuencias de ADN diferentes procedentes de las reconocidas por endonucleasas naturales (véase la solicitud internacional W02006/097854).

Dicha endonucleasa de corte raro puede ser una endonucleasa de unión a ADN modular. Por nucleasa de unión a ADN modular se entiende cualquier proteína de fusión que comprende al menos un dominio catalítico de una endonucleasa y al menos un dominio o proteína que especifica una secuencia de ácido nucleico diana. El dominio de unión a ADN es generalmente un dominio de unión a ARN o ADN formado polipéptido plegado de forma independiente o un dominio de proteína que contiene al menos un motivo que reconoce polinucleótidos bicatenarios o monocatenarios. Se han descrito en la técnica muchos de dichos polipéptidos que tienen la capacidad de unirse a secuencias de ácido nucleico específicas. Dichos dominios de unión comprenden a menudo, a modo de ejemplos no limitantes, dominios de hélice a hélice, dominios de cremallera de leucina, dominios de hélice alados, dominios de hélice-bucle-hélice, dominios de secuencia HMG, dominios de la inmunoglobulina, dominio B3 o dominio de dedo de cinc diseñado mediante ingeniería genética.

Nucleasas de dedo de cinc

Se desarrolló inicialmente para escindir el ADN in vitro, Las "nucleasas de dedo de cinc" (ZFN son una fusión entre el dominio de escisión de la enzima de restricción de tipo IIS, FokI, y un dominio de reconocimiento del ADN que contiene 3 o más motivos C2H2 de dedo de cinc. La heterodimerización en una posición concreta en el ADN de los dos ZFN individuales en orientación precisa y la separación produce una rotura bicatenaria (DSB) en el ADN. Se ha notificado extensamente en la técnica el uso de dichas endonucleasas quiméricas como se ha revisado por Urnov et al. (Genome editing with engineered zinc finger nucleases (2010) *Nature reviews Genetics* 11:636-646).

Las ZFN convencionales se fusionan al dominio de escisión en el extremo C de cada dominio de dedo de cinc. A fin de permitir que los dos dominios de escisión dimericen y escindan el ADN, las dos ZFN individuales se unen a hebras opuestas de ADN con sus extremos C alejados entre sí una determinada distancia. Las secuencias enlazadoras más comúnmente utilizadas entre el dominio de dedo de cinc y el dominio de escisión requieren que el borde 5' de cada sitio de unión esté separado por 5 a 7 pb.

El método más directo para generar nuevas matrices de dedos de cinc es combinar módulos de dedos de cinc más pequeños de especificidad conocida. El proceso de ensamblaje modular más común implica combinar tres dedos de cinc separados que pueden reconocer una secuencia de ADN de 3 pares de bases para generar una matriz de 3 dedos que puede reconocer un sitio diana de 9 pares de bases. Se han usado numerosos métodos de selección para generar matrices de dedos de cinc capaces de dirigir secuencias deseadas. Los esfuerzos de selección iniciales utilizaron la expresión en fagos para seleccionar proteínas que se unen a un ADN diana dado procedente de un combinado grande de matrices de dedo de cinc parcialmente aleatorizadas. Esfuerzos más recientes han utilizado un sistema de levadura híbrida, un sistema de una bacteria híbrida y dos sistemas híbridos, y células de mamíferos.

Nucleasas TAL

"Nucleasa TALE" o "nucleasa MBBBD" se refiere a proteínas diseñadas mediante ingeniería genética que son el resultado de la fusión de un dominio de unión a ADN derivado normalmente de proteínas efectoras análogas al activador de la transcripción (TALE) o un dominio de unión base por base modular (MBBBD), con un dominio catalítico

que tiene actividad endonucleasa. Dicho dominio suele proceder de enzimas, tales como por ejemplo I-TevI, CoIE7, NucA y Fok-I. La nucleasa TALE puede formarse en formas monoméricas o diméricas dependiendo del dominio catalítico seleccionado (documento WO2012138927). Dichas nucleasas TALE diseñadas mediante ingeniería genética están comercialmente disponibles con el nombre comercial TALEN™ (Collectis, 8 rue de la Croix Jarry, 75013 Paris, Francia).

De acuerdo con una realización preferida de la invención, el dominio de unión a ADN se deriva de un efector análogo al activador de la transcripción (TALE), en el que la especificidad de la secuencia viene dada por una serie de 33-35 repeticiones de aminoácidos que se originan a partir de las proteínas bacterianas AvrBs3, PthXo1, AvrHah1, PthA, Tal1c de *Xanthomonas* o *Ralstonia* como ejemplos no limitantes.

Estas repeticiones difieren esencialmente en dos posiciones de aminoácidos que especifican una interacción con un par de bases (Boch, Scholze et al. 2009; Moscou y Bogdanove 2009). Cada par de bases en el ADN diana se pone en contacto por una única repetición, con la especificidad resultante de dos variantes de aminoácidos de la repetición (el dipéptido variable de la repetición así denominado, (RVD)). Los dominios de unión a TALE pueden comprender además un dominio de traslocación en el extremo N responsable del requerimiento de una primera base de timina (TO) de la secuencia dirigida y un dominio en el extremo C que contiene señales de localización nuclear (NLS). Un dominio de unión a ácido nucleico de TALE corresponde generalmente a un núcleo de una estructura principal de TALE diseñado mediante ingeniería genética que comprende una pluralidad de secuencias de repetición de TALE, comprendiendo cada repetición un RVD específico de cada base de nucleótidos de un sitio de reconocimiento de TALE. En la presente invención, cada secuencia de repetición de TALE de dicho núcleo de la estructura principal está constituido por 30 a 42 aminoácidos, más preferentemente 33 o 34 en el que dos aminoácidos críticos (el dipéptido variable de la repetición así denominado, RVD) localizado en las posiciones 12 y 13 media el reconocimiento de un nucleótido de dicha secuencia del sitio de unión a TALE; equivalente a dos aminoácidos críticos que pueden localizarse en posiciones diferentes de 12 y 13, especialmente en la secuencia de repetición de TALE con más de 33 o 34 aminoácidos de longitud. Preferentemente, los RVD asociados con el reconocimiento de diferentes nucleótidos son HD para reconocer C, NG para reconocer T, NI para reconocer A, NN para reconocer G o A. En otra realización, los aminoácidos críticos 12 y 13 pueden estar mutados hacia otros restos de aminoácidos a fin de modular su especificidad hacia los nucleótidos A, T, C y G, y en particular para potenciar su especificidad. Un dominio de unión al ácido nucleico de TALE comprende normalmente entre 8 y 30 secuencias de repetición de TALE. Más preferentemente, dicho núcleo de estructura principal de la presente invención comprende entre 8 y 20 secuencias de repetición de TALE; de nuevo más preferentemente 15 secuencias de repetición de TALE. Este puede comprender también una única secuencia de repetición de TALE truncada adicional constituida por 20 aminoácidos localizados en el extremo C de dicho conjunto de secuencias de repetición de TALE, es decir, una secuencia de repetición semi-Tale en el extremo C adicional.

Se pueden usar otros dominios de unión a ADN diseñados mediante ingeniería genética como secuencias alternativas para formar dominios de unión de ácidos nucleicos específicos basa por base modulares así denominados (MBBBD) como se describe en el documento WO 2014/018601. Dicho MBBBD puede diseñarse mediante ingeniería genética, por ejemplo, a partir de proteínas identificadas recientemente, concretamente proteínas EAV36_BURRH, E5AW43_BURRH, E5AW45_BURRH y E5AW46_BURRH procedentes del genoma secuenciado recientemente del hongo endosimbionte *Burkholderia Rhizoxinica* (Lackner, Moebius et al. 2011). Estos polipéptidos de unión a ácido nucleico comprenden módulos de aproximadamente 31 a 33 aminoácidos que son específicos de base. Estos módulos presentan menos de 40% de identidad de la secuencia con repeticiones comunes de TALE de *Xanthomonas* y presentan más variabilidad en la secuencia de polipéptidos. Los diferentes dominios de las anteriores proteínas (módulos, extremos N y C) de *Burkholderia* y *Xanthomonas* son útiles para diseñar mediante ingeniería genética nuevas proteínas o estructuras principales que tengan propiedades de unión con las secuencias de ácido nucleico específicas y pueden combinarse para formar proteínas TALE-MBBBD quiméricas.

A modo de ejemplos, la presente invención abarca un método para diseñar mediante ingeniería genética los linfocitos T a fin de inactivar la expresión de los genes que codifican marcadores antigénicos tales como CD38, CS1 y CD70 utilizando nucleasas TALE específicas.

Particularmente adecuadas para la realización de la invención, las nucleasas TALE tales como las de la SEQ ID NO: 2-3;5-6;8-9, SEQ ID NO: 64-65;67-68;70-71 y SEQ ID NO: 73-74;76-77;79-80 para los genes CD38, CS1 y CD70, respectivamente. Estas nucleasas TALE específicas, su secuencia diana y el protocolo utilizado se presentan más a fondo en los Ejemplos 1-3 siguientes.

Métodos de administración

Los inventores han considerado cualesquiera medios conocidos en la técnica para permitir la administración en el interior de las células o los compartimentos subcelulares de dichas células los polinucleótidos que expresan las endonucleasas, sus posibles cofactores (por ejemplo, ARN o ADN guía asociado con Cas9 o las nucleasas Argonauta) así como los receptores de antígenos quiméricos. Estos medios incluyen la transducción vírica, la electroporación y también los medios de administración liposómicos, transportadores poliméricos, transportadores químicos, lipoplexos, poliplexos, dendrímeros, nanopartículas, emulsiones, la ruta de la endocitosis o fagocitosis natural como ejemplos no limitantes.

Como una realización preferida de la invención, los polinucleótidos que codifican las endonucleasas de la presente invención se transfectan en el ARNm a fin de obtener la expresión transitoria y evitar la integración cromosómica del ADN extraño, por ejemplo, mediante electroporación. Los inventores han determinado diferentes condiciones óptimas para la electroporación del ARNm en los linfocitos T presentados en la Tabla 1. El inventor utilizó la tecnología cytoPulse que permite, mediante el uso de campos eléctricos pulsados, para permeabilizar transitoriamente las células vivas para la administración de material en las células (patente de EE.UU. 6.010.613 y el documento WO 2004/083379). Se puede modificar la duración del pulso, la intensidad así como el intervalo entre pulsos a fin de alcanzar las mejores condiciones para una eficacia de transfección alta con mortalidad mínima. Básicamente, los primeros pulsos del campo eléctrico alto permiten la formación del poro, mientras que los posteriores pulsos del campo eléctrico menor permiten el movimiento del polinucleótido en la célula. En un aspecto de la presente invención, el inventor describe las etapas que conducen a la consecución de >95% de eficacia de la transfección del ARNm en linfocitos T, y el uso del protocolo de electroporación para expresar transitoriamente diferentes tipos de proteínas en los linfocitos T. En particular, la invención se refiere a un método para transformar los linfocitos T que comprende poner en contacto dicho linfocito T con ARN y aplicar al linfocito T una secuencia de pulso ágil que consiste en:

(a) un pulso eléctrico con un intervalo de voltaje de 2250 a 3000 V por centímetro, una anchura de pulso de 0,1 ms y un intervalo de pulso de 0,2 a 10 ms entre los pulsos eléctricos de la etapa (a) y (b);

(b) un pulso eléctrico con un intervalo de voltaje de 2250 a 3000 V con una anchura de pulso de 100 ms y un intervalo de pulso de 100 ms entre el pulso eléctrico de la etapa (b) y el primer pulso eléctrico de la etapa (c); y

(c) 4 pulsos eléctricos con un voltaje de 325 V con una anchura de pulso de 0,2 ms y un intervalo de pulso de 2 ms entre cada uno de los 4 pulsos eléctricos.

En una realización concreta, el método para transformar el linfocito T comprende poner en contacto dicho linfocito T con ARN y aplicar al linfocito T una secuencia de pulso ágil que consiste en:

(a) un pulso eléctrico con un voltaje de 2250, 2300, 2350, 2400, 2450, 2500, 2550, 2400, 2450, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900 o 3000V por centímetro, una anchura de pulso de 0,1 ms y un intervalo de pulso de 0,2, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 ms entre los pulsos eléctricos de la etapa (a) y (b);

(b) un pulso eléctrico con un intervalo de voltaje de 2250, de 2250, 2300, 2350, 2400, 2450, 2500, 2550, 2400, 2450, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900 o 3000V con una anchura de pulso de 100 ms y un intervalo de pulso de 100 ms entre el pulso eléctrico de la etapa (b) y el primer pulso eléctrico de la etapa (c); y

(c) 4 pulsos eléctricos con un voltaje de 325 V con una anchura de pulso de 0,2 ms y un intervalo de pulso de 2 ms entre cada uno de los 4 pulsos eléctricos.

Se divulgan en la presente solicitud cualesquiera valores incluidos en el intervalo de valor descrito anteriormente. El medio de electroporación puede ser cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Preferentemente, el medio de electroporación tiene una conductividad en un intervalo que se extiende desde 0,01 a 1,0 miliSiemens.

Tabla 1: Se utilizaron diferentes programas de citopulsos para determinar el voltaje mínimo requerido para la electroporación en linfocitos T derivados de PBMC.

<i>Programa de citopulsos</i>	Grupo 1				Grupo 2				Grupo 3			
	Pulsos	V	duración (ms)	Intervalo (ms)	Pulsos	V	duración (ms)	Intervalo (ms)	Pulsos	V	duración (ms)	Intervalo (ms)
1	1	600	0,1	0,2	1	600	0,1	100	4	130	0,2	2
2	1	900	0,1	0,2	1	900	0,1	100	4	130	0,2	2
3	1	1200	0,1	0,2	1	1200	0,1	100	4	130	0,2	2
4	1	1200	0,1	10	1	900	0,1	100	4	130	0,2	2
5	1	900	0,1	20	1	600	0,1	100	4	130	0,2	2

Transducción vírica

De acuerdo con la presente invención, el uso de vectores retrovíricos y más preferentemente de vectores lentivíricos es particularmente adecuado para expresar los receptores del antígeno quiméricos en los linfocitos T. Son bien conocidos en la técnica los métodos para la transducción vírica (Walther et al. (2000) Viral Vectors for Gene Transfer. *Drugs*. 60(2):249-271). Los vectores víricos integradores permiten la integración estable de los polinucleótidos en el genoma de los linfocitos T y expresar los receptores del antígeno quimérico durante un periodo de tiempo más largo.

Linfocitos T no alorreactivos

Aunque el método que se describe en el presente documento podría llevarse a cabo *in vivo* como parte de una terapia génica, por ejemplo, utilizando vectores víricos que se dirigen a linfocitos T en la circulación de la sangre, que incluirían secuencias genéticas que expresan una endonucleasa de corte raro junto con otras secuencias genéticas que expresan un CAR, se pretende que el método de la invención se practique *ex vivo* en linfocitos T cultivados obtenibles de pacientes o donantes. Los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética *ex vivo* pueden tanto reimplantarse en un paciente a partir de donde se originan, como parte de un tratamiento autólogo, como usarse como parte de un tratamiento alogénico. En este último caso, es preferible diseñar mediante ingeniería genética adicionalmente la célula para hacerlas no alorreactivas para asegurar su injerto adecuado. Por consiguiente, el método de la invención puede incluir etapas adicionales de procurar los linfocitos T de un donante e inactivar los genes del mismo implicados en el reconocimiento de MHC y/o de ser dianas de fármacos inmunosupresores tal como se describe, por ejemplo, en el documento WO 2013/176915.

Los receptores de los linfocitos T (TCR) son receptores de la superficie celular que participan en la activación de los linfocitos T en respuesta a la presentación del antígeno. El TCR está constituido generalmente de dos cadenas, alfa y beta, que se ensamblan para formar un heterodímero y se asocian con las subunidades transductoras de CD3 para formar el complejo receptor de los linfocitos T presente sobre la superficie de la célula. Cada cadena alfa y beta del TCR consiste en una región variable en el extremo N análoga a inmunoglobulina (V) y una región constante (C), un dominio transmembrana hidrófobo y un dominio citoplásmico corto. Como para las moléculas de inmunoglobulina, la región variable de las cadenas alfa y beta se genera por la recombinación de V(D)J, creando una gran diversidad de especificidades antigénicas en la población de linfocitos T. Sin embargo, en contraste con las inmunoglobulinas que reconocen el antígeno intacto, los linfocitos T se activan por fragmentos peptídicos procesados en asociación con una molécula de MHC, introduciendo una dimensión extra al reconocimiento del antígeno por las células, conocida como restricción de MHC. El reconocimiento de las disparidades de MHC entre el donante y el receptor mediante el receptor de los linfocitos T conduce a la proliferación de linfocitos T y al desarrollo potencial de GVHD. Se ha mostrado que la expresión de la superficie normal de TCR depende de la síntesis y el ensamblaje coordinado de los siete componentes del complejo (Ashwell y Klusner 1990). La inactivación de TCRalfa o TCRbeta puede dar como resultado la eliminación del TCR de la superficie de los linfocitos T evitando el reconocimiento del aloantígeno y por tanto de GVHD.

Por lo tanto, todavía, de acuerdo con la invención, el injerto de los linfocitos T puede mejorarse inactivando al menos un gen que codifica un componente TCR. TCR se vuelve no funcional en las células inactivando el gen de TCR alfa y/o el(los) gen(es) de TCR beta.

Con respecto al uso del sistema Cas9/CRISPR, los inventores han determinado secuencias diana adecuadas en los 3 exones que codifican TCR, permitiendo una reducción significativa de la toxicidad en las células vivas, reteniendo a la vez la eficacia de la escisión. En la Tabla 2 se indican las secuencias diana preferidas (+ para la relación menor de células negativas para TCR, ++ para la relación intermedia, +++ para la relación mayor).

Tabla 2: Secuencias diana adecuadas para el ARN guía utilizando Cas9 en linfocitos T

TCR del exón	Posición	Hebra	Secuencia genómica diana	SEQ ID	Eficacia
Ex1	78	-1	GAGAATCAAAATCGGTGAATAGG	102	+++
Ex3	26	1	TTCAAAACCTGTCAGTGATTGGG	103	+++
Ex1	153	1	TGTGCTAGACATGAGGTCTATGG	104	+++
Ex3	74	-1	CGTCATGAGCAGATTAAACCCGG	105	+++
Ex1	4	-1	TCAGGGTTCTGGATATCTGTGGG	106	+++
Ex1	5	-1	GTCAGGGTTCTGGATATCTGTGG	107	+++
Ex3	33	-1	TTCGGAACCCAATCACTGACAGG	108	+++
Ex3	60	-1	TAAACCCGGCCACTTTCAGGAGG	109	+++
Ex1	200	-1	AAAGTCAGATTTGTTGCTCCAGG	110	++
Ex1	102	1	AACAAATGTGTCACAAAGTAAGG	111	++
Ex1	39	-1	TGGATTAGAGTCTCTCAGCTGG	112	++
Ex1	59	-1	TAGGCAGACAGACTTGCTACTGG	113	++
Ex1	22	-1	AGCTGGTACACGGCAGGGTCAGG	114	++
Ex1	21	-1	GCTGGTACACGGCAGGGTCAGGG	115	++
Ex1	28	-1	TCTCTCAGCTGGTACACGGCAGG	116	++
Ex3	25	1	TTTCAAAACCTGTCAGTGATTGG	117	++

TCR del exón	Posición	Hebra	Secuencia genómica diana	SEQ ID	Eficacia
Ex3	63	-1	GATTAAACCCGGCCACTTTCAGG	118	++
Ex2	17	-1	CTCGACCAGCTTGACATCACAGG	119	++
Ex1	32	-1	AGAGTCTCTCAGCTGGTACACGG	120	++
Ex1	27	-1	CTCTCAGCTGGTACACGGCAGGG	121	++
Ex2	12	1	AAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGG	122	++
Ex3	55	1	ATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGG	123	++
Ex3	86	1	TGCTCATGACGCTGCGGCTGTGG	124	++
Ex1	146	1	ACAAAAGTGTGCTAGACATGAGG	125	+
Ex1	86	-1	ATTTGTTTGAGAATCAAAATCGG	126	+
Ex2	3	-1	CATCACAGGAACCTTCTAAAAGG	127	+
Ex2	34	1	GTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGG	128	+
Ex3	51	-1	CCAATTCAGGAGGAGGATTCGG	129	+
Ex3	18	-1	CTGACAGGTTTTGAAAGTTTAGG	130	+
Ex2	43	1	AGCTTTGAAACAGGTAAGACAGG	131	+
Ex1	236	-1	TGGAATAATGCTGTTGTTGAAGG	132	+
Ex1	182	1	AGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGG	133	+
Ex3	103	1	CTGTGGTCCAGCTGAGGTGAGGG	134	+
Ex3	97	1	CTGCGGCTGTGGTCCAGCTGAGG	135	+
Ex3	104	1	TGTGGTCCAGCTGAGGTGAGGGG	136	+
Ex1	267	1	CTTCTTCCCCAGCCCAGGTAAGG	137	+
Ex1	15	-1	ACACGGCAGGGTCAGGGTTCTGG	138	+
Ex1	177	1	CTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGG	139	+
Ex1	256	-1	CTGGGGAAGAAGGTGTCTTCTGG	140	+
Ex3	56	1	TCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGG	141	+
Ex3	80	1	TTAATCTGCTCATGACGCTGCGG	142	+
Ex3	57	-1	ACCCGGCCACTTTCAGGAGGAGG	143	+
Ex1	268	1	TTCTTCCCCAGCCCAGGTAAGGG	144	+
Ex1	266	-1	CTTACCTGGGCTGGGGAAGAAGG	145	+
Ex1	262	1	GACACCTTCTTCCCCAGCCCAGG	146	+
Ex3	102	1	GCTGTGGTCCAGCTGAGGTGAGG	147	+
Ex3	51	1	CCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGG	148	+

Los antígenos de MHC son también proteínas que juegan un papel principal en las reacciones de trasplante. El rechazo está mediado por linfocitos T que reaccionan a los antígenos de histocompatibilidad en la superficie de los tejidos implantados, y el grupo más grande de estos antígeno es el de los antígenos de histocompatibilidad mayor (MHC). Estas proteínas en la superficie de todos los vertebrados superiores y se denominan antígenos HLA (para los antígenos de leucocitos humanos) en células humanas. al igual que TCR, las proteínas MHC tiene un papel vital en la estimulación de los linfocitos T. Las células presentadoras de antígenos (a menudo células dendríticas) expresan péptidos que son los productos de degradación de proteínas extrañas sobre la superficie celular del MHC. En presencia de una señal coestimuladora, el linfocito T se activa, y actuará en una célula diana que también expresa el mismo complejo de péptido/MHC. Por ejemplo, un linfocito T auxiliar estimulado dirigirá un macrófago que expresa un antígeno junto con su MHC, o un linfocito T citotóxico (LTC) actuará en una célula infectada por virus expresando péptidos víricos extraños.

Por lo tanto, a fin de proporcionar menos linfocitos T alorreactivos, el método de la invención puede comprender además la etapa de inactivar o mutar un gen HLA.

La agrupación de genes HLA de clase I en seres humanos comprende tres loci mayores, B, C y A, así como varios loci menores. Las agrupación HLA de clase II comprende también tres loci mayores, DP, DQ y DR, y ambas agrupaciones de genes de clase I y clase II son polimórficas, porque existe varios alelo diferentes en los genes de

clase y clase II en la población. Existen también algunas proteínas accesorias que juegan también un papel en el funcionamiento de HLA. Las subunidades Tapi y Tap2 son partes del complejo transportador TAP que es esencial en la carga de antígenos peptídicos sobre los complejos HLA de la clase I, y las subunidades proteosómicas LMP2 y LMP7 juegan papeles en la degradación proteolítica de antígenos en péptidos para expresar en HLA. La reducción en LMP7 ha mostrado reducir la cantidad de MHC de clase I en la superficie de la célula, quizá a través de una ausencia de estabilización (Fehling et al. (1999) *Science* 265:1234-1237). Además de TAP y LMP, existe un gen de la tapasina, cuyo producto forma un puente entre el complejo TAP y las cadenas de HLA de clase I y potencia la carga del péptido. La reducción en la tapasina da como resultado células con ensamblaje de MHC de clase I alterado, expresión reducida de la superficie celular de MHC de clase I y respuestas inmunitarias alteradas (Grande et al. (2000) *Immunity* 13:213-222 y Garbi et al. (2000) *Nat. Immunol.* 1:234-238). Cualquiera de los anteriores genes puede inactivarse como parte de la presente invención como se divulga, por ejemplo, en el documento WO 2012/012667.

Métodos para diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T resistentes a fármacos:

Para mejorar la terapia contra el cáncer y el injerto selectivo de linfocitos T alogénicos, se puede conferir resistencia al fármaco a los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética para protegerlos de los efectos secundarios tóxicos de los agentes quimioterapéuticos o inmunosupresores. De hecho, los inventores han observado que la mayoría de los pacientes se trataron con agentes quimioterapéuticos y agentes inmunosupresores como cuidado médico normal, antes de recibir la inmunoterapia de linfocitos T. También se encuentra que pueden aprovecharse estos tratamientos para ayudar a la selección de los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética, añadiendo tanto fármacos quimioterapéuticos en medio de cultivo para la expansión de las células *ex vivo* antes del tratamiento, como obteniendo una expansión selectiva de los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética *in vivo* en pacientes bajo inmunoterapia o tratamientos inmunosupresores.

También la resistencia al fármaco de los linfocitos T permite su enriquecimiento *in vivo* o *ex vivo*, puesto que los linfocitos T que expresan el gen de la resistencia a fármacos, sobrevivirán y se multiplicarán con respecto a las células sensibles a fármacos. En particular, la presente invención se refiere a un método para diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T alogénicos y resistencia a fármacos resistentes para la inmunoterapia que comprenden:

(a) Proporcionar un linfocito T;

(b) Seleccionar al menos un fármaco;

(c) Modificar el linfocito T para conferir resistencia al fármaco a dicho linfocito T;

(d) Expandir dicho linfocito T diseñado mediante ingeniería genética en presencia de dicho fármaco, y opcionalmente, las etapas anteriores pueden combinarse con las etapas de los métodos como se ha descrito previamente.

Se puede conferir resistencia al fármaco a un linfocito T inactivado uno o más genes responsables de la sensibilidad de la célula al fármaco (gen(es) de sensibilización al fármaco), tal como el gen de la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (HPRT) (Genbank: M26434.1). En particular, HPRT puede inactivarse en linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética para conferir resistencia a un metabolito citostático, la 6-tioguanina (6TG) que se convierte por HPRT en el nucleótido de tioguanina citotóxica y que se usa normalmente para tratar pacientes con cáncer, en particular leucemias (Hacke, Treger et al. 2013). Otro ejemplo es si la inactivación del CD3 expresada normalmente en la superficie del linfocito T puede conferir resistencia a anticuerpos dirigidos contra CD3 tales como teplizumab.

Puede conferirse también resistencia a fármacos a los linfocitos T expresando un gen de resistencia a fármacos. Dicho gen de resistencia a fármacos se refiere a una secuencia de ácidos nucleico que codifica la "resistencia" a un agente, tal como un agente quimioterapéutico (por ejemplo, metotrexato). En otras palabras, la expresión del gen de resistencia a fármacos en una célula permite la proliferación de las células en presencia del agente en una extensión mayor que la proliferación de una célula correspondiente sin el gen de resistencia a fármacos. Un gen de resistencia a fármacos de la invención puede codificar la resistencia a antimetabolitos, metotrexato, vinblastina, cisplatino, agentes alquilantes, antraciclinas, antibióticos citotóxicos, anti-inmunofilinas, sus análogos o derivados, y similares.

Se han identificado variantes alélicas de diversos genes tales como dihidrofolato reductasa (DHFR), inosina monofosfato deshidrogenasa 2 (IMPDH2), calcineurina o metilguanina transferasa (MGMT) por conferir resistencia a fármacos a una célula. Dicho gen de resistencia a fármacos puede expresarse en la célula tanto introduciendo un transgén que codifica dicho gen en la célula como integrando dicho gen de resistencia a fármacos en el genoma de la célula mediante recombinación homóloga. Se han identificado algunos genes de resistencia a fármacos diferentes que pueden utilizarse potencialmente para conferir resistencia a fármacos a las células dirigidas (Takebe, Zhao et al. 2001; Sugimoto, Tsukahara et al. 2003; Zielske, Reese et al. 2003; Nivens, Felder et al. 2004; Bardenheuer, Lehmborg et al. 2005; Kushman, Kabler et al. 2007).

DHFR es una enzima implicada en la regulación de la cantidad de tetrahidrofolato en la célula y es esencial para la síntesis de ADN. Los análogos de folato tales como metotrexato (MTX) inhiben DHFR y se usan por tanto como agentes antineoplásicos en escenarios clínicos. Se han descrito diferentes forma mutantes de DHFR que tienen una

resistencia aumentada a la inhibición por antifolatos utilizada en terapia. En una realización concreta, el gen de resistencia a fármacos de acuerdo con la presente invención puede ser una secuencia de ácido nucleico que codifica una forma mutante de DHFR natural humano (GenBank: AAH71996.1) que comprende al menos una mutación que confiere resistencia a un tratamiento con antifolato, tal como metotrexato. En una realización concreta, la forma mutante de DHFR comprende al menos un aminoácido mutado en la posición G15, L22, F31 o F34, preferentemente en las posiciones L22 o F31 ((Schweitzer, Dicker et al. 1990); solicitud internacional WO 94/24277; patente de Estados Unidos US 6.642.043).

Como se usa en el presente documento, "agente antifolato" o "análogos de folato" se refiere a una molécula dirigida para interferir con la ruta metabólica del folato en algún nivel. Los ejemplos de agentes antifolato incluyen, por ejemplo, metotrexato (MTX); aminopterina; trimetrexato (Neutrexin™); edatrexato; ácido N10-propargil-5,8-dideazafólico (CB3717); ZD1694 (Tumodex), ácido 5,8-didesazaisofólico (IAHQ); ácido 5,10-didesazatetrahidrofólico (DDATHF); Ácido 5-desazafólico; PT523 (N alfa-(4-amino-4-desoxipteroil)-N delta-hemifitaloil-L-ornitina); 10-etil-10-desazaaminopterina (DDATHF, lomatrexol); piritrexim; 10-EDAM; ZD1694; GW1843; Pemetrexato y PDX (10-propargil-10-deazaaminopterina).

Otro ejemplo de gen de resistencia a fármacos puede ser también una forma mutante o modificada de la ionisina-5'-monofosfato deshidrogenasa II (IMPDH2), una enzima limitante de la velocidad en la síntesis *de novo* de los nucleótidos de guanosina. La forma mutante o modificada de IMPDH2 es un gen de resistencia al inhibidor de IMPDH. Los inhibidores de IMPDH pueden ser ácido micofenólico (MPA) o su profármaco micofenolato de mofetilo (MMF). El IMPDH2 mutante puede comprender al menos una, preferentemente dos mutaciones en el sitio de unión a MAP del IMPDH2 humano natural (NP_000875.2) que conduce a una resistencia significativamente aumentada al inhibidor de IMPDH. Las mutaciones están preferentemente en las posiciones T333 y/o S351 (Yam, Jensen et al. 2006; Sangiolo, Lesnikova et al. 2007; Jonnalagadda, Brown et al. 2013). En una realización concreta, el resto de treonina en la posición 333 se sustituye con un resto de isoleucina y el resto de serina en la posición 351 se sustituye con un resto de tirosina.

Otro gen de resistencia a fármacos es la forma mutante de calcineurina. Calcineurina (PP2B) es una serina/treonina proteína fosfatasa que se expresa de forma ubicua que está implicada en muchos procesos biológicos y que es fundamental para la activación de los linfocitos T. La calcineurina es un heterodímero compuesto de una subunidad catalítica (CnA; tres isoformas) y una subunidad reguladora (CnB; dos isoformas). Tras el encaje del receptor de los linfocitos T, la calcineurina desfosforila el factor de transcripción NFAT, permitiendo a este translocarse en el núcleo y activar el gen diana clave tal como IL2. FK506 en complejo con FKBP12, o ciclosporina A (CsA) en complejo con CyPA bloquea el acceso NFAT al sitio activo de la calcineurina, evitando su desfosforilación e inhibiendo por tanto la activación de los linfocitos T (Brewin, Mancao et al. 2009). El gen de resistencia a fármacos de la presente invención puede ser una secuencia de ácido nucleico que codifica una forma mutante de la calcineurina resistente a inhibidores de la calcineurina tales como FK506 y/o CsA. En una realización concreta, dicha forma mutante puede comprender al menos un aminoácido mutado del heterodímero de calcineurina a natural en las posiciones: V314, Y341, M347, T351, W352, L354, K360, preferentemente mutaciones dobles en las posiciones T351 y L354 o V314 e Y341. La correspondencia de las posiciones de aminoácidos descritas en el presente documento se expresa frecuentemente en términos de las posiciones de los aminoácidos de la forma del heterodímero de calcineurina humana natural (GenBank: ACX34092.1).

En otra realización concreta, dicha forma mutante puede comprender al menos un aminoácido mutado del heterodímero de calcineurina b natural en las posiciones: V120, N123, L124 o K125, preferentemente mutaciones dobles en las posiciones L124 y K125. La correspondencia de las posiciones de aminoácidos descritas en el presente documento se expresa con frecuencia en términos de las posiciones de los aminoácidos de la forma del polipéptido del heterodímero de calcineurina b humana natural (GenBank: ACX34095.1).

Otro gen de resistencia a fármacos es 0(6)-metilguanina metiltransferasa (MGMT) que codifica la alquil guanina transferasa humana (hAGT). AGT es una proteína reparadora del ADN que confiere resistencia a los efectos citotóxicos de los agentes alquilantes, tales como nitrosoureas y temozolomida (TMZ). 6-bencilguanina (6-BG) es un inhibidor de AGT que potencia la toxicidad de la nitrosourea y se administra simultáneamente con TMZ para potenciar los efectos citotóxicos de este agente. Algunas formas mutantes de MGMT que codifican variantes de AGT son muy resistentes a la inactivación por 6-BG, pero retienen su capacidad de reparar el daño del ADN (Maze, Kurpad et al. 1999). En una realización concreta, la forma mutante de AGT puede comprender un aminoácido mutado de la posición P140 de AGT natural (UniProtKB: P16455).

Otro gen de resistencia a fármacos puede ser el gen de la proteína 1 de resistencia a multifármacos (MDR1). Este gen codifica una glicoproteína de membrana, conocida como glicoproteína-P (P-GP) implicada en el transporte de subproductos metabólicos a través de la membrana celular. La proteína P-Gp presenta una amplia especificidad hacia algunos agentes quimioterapéuticos no relacionados estructuralmente. Por lo tanto, puede conferirse resistencia a fármacos a las células mediante la expresión de una secuencia de ácido nucleico que codifica MDR-1 (NP_000918).

El gen de resistencia a fármacos puede ser también a antibióticos citotóxicos, tal como el gen *ble* o el gen *mcrA*. La expresión ectópica del gen *ble* o del gen *mcrA* en células inmunitarias proporciona una ventaja selectiva cuando se

expone al agente quimioterapéutico, respectivamente la bleomicina o la mitomicina C.

Los linfocitos T pueden también hacerse resistente a los agentes inmunosupresores. Un agente inmunosupresor es un agente que suprime la función inmunitaria por uno de los varios mecanismos de acción. En otras palabras, un agente inmunosupresor es un papel jugado por un compuesto que presenta una capacidad de disminuir la extensión y/o la voracidad de una respuesta inmunitaria. Como ejemplo no limitante, un agente inmunosupresor puede ser un inhibidor de calcineurina, una diana de rapamicina, un bloqueante de la cadena α de interleuquina-2, un inhibidor de la inosina monofosfato deshidrogenasa, un inhibidor de la ácido dihidrofólico reductasa, un corticoesteroide o un antimetabolito inmunosupresor. Los inmunosupresores citotóxicos clásicos actúan inhibiendo la síntesis de ADN. Otros pueden actuar mediante la activación de los linfocitos T o inhibiendo la activación de las células auxiliares. El método de acuerdo con la invención permite conferir resistencia inmunosupresora a los linfocitos T para inmunoterapia inactivando la diana del agente inmunosupresor en los linfocitos T. A modo de ejemplos no limitantes, las dianas para el agente inmunosupresor puede ser un receptor de un agente inmunosupresor tal como: CD52, un receptor glucocorticoide (RG), un miembro de los genes de la familia FKBP y un miembro de los genes de la familia ciclofilina.

En los hospedadores inmunocompetentes, las células alogénicas son normalmente rechazadas rápidamente por el sistema inmunitario del hospedador. Se ha demostrado que, los leucocitos alogénicos presentes en productos sanguíneo no irradiados persistirá durante no más de 5 a 6 días. Por lo tanto, para evitar el rechazo de las células alogénicas, el sistema inmunitario del hospedador debe suprimirse eficazmente. Los glucocorticoesteroides son ampliamente utilizados terapéuticamente para la inmunosupresión. Esta clase de hormonas esteroideas se une al receptor glucocorticoide (RG) presente en el citosol de los linfocitos T dando como resultado la translocación en el núcleo y la unión de los motivos de ADN específicos que regulan la expresión de numerosos genes implicados en el proceso inmunológico. El tratamiento de los linfocitos T con esteroides glucocorticoides da como resultado niveles reducidos de producción de citoquinas que conducen a la anergia de los linfocitos T e interfieren en la activación de los linfocitos T. Alemtuzumab, también conocido como CAMPATH1-H, es un anticuerpo monoclonal humanizado que se dirige a CD52, una glicoproteína de 12 aminoácidos unida a glicosilfosfatidil-inositol- (GPI) (Waldmann y Hale, 2005). CD52 se expresa a altos niveles en los linfocitos T y B y a niveles menores en los monocitos mientras que está ausente en los granulocitos y los precursores de la médula ósea. El tratamiento con Alemtuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra CD52, ha mostrado inducir un rápido agotamiento de linfocitos y monocitos en circulación. Se usa frecuentemente en el tratamiento de linfomas de linfocitos T y en determinados casos como parte de un régimen de acondicionamiento para el trasplante. Sin embargo, en el caso de inmunoterapia adoptiva, el uso de fármacos inmunosupresores tendrá también un efecto perjudicial sobre los linfocitos T terapéuticos introducidos. Por lo tanto, para usar eficazmente una estrategia de inmunoterapia adoptiva en estas condiciones, las células introducidas necesitarían ser resistentes al tratamiento inmunosupresor.

Como una realización preferida de las etapas anteriores, dicho gen de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es CD52, y el tratamiento inmunosupresor de la etapa (d) comprende un anticuerpo humanizado que se dirige al antígeno CD52. Como realización diferente, dicho gen de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es un receptor glucocorticoide (RG) y el tratamiento inmunosupresor de la etapa (d) comprende un corticoesteroide tal como dexametasona. Como realización diferente, dicho gen diana de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es un miembro de los genes de la familia FKBP o una variante del mismo y el tratamiento inmunosupresor de la etapa (d) comprende FK506, conocido también como tacrolimus o fujimicina. Como realización diferente, dicho miembro de los genes de la familia FKBP es FKBP12 o una variante del mismo. Como realización diferente, dicho gen de la etapa (b), específico para un tratamiento inmunosupresor, es un miembro de los genes de la familia ciclofilina o una variante del mismo y el tratamiento inmunosupresor de la etapa (d) comprende ciclosporina.

En una realización particular de la invención, la etapa de modificación genética del método se basa en la inactivación de dos genes seleccionados entre el grupo que consiste en CD52 y RG, CD52 y TCR alfa, CDR52 y TCR beta, RG y TCR alfa, RG y TCR beta, TCR alfa y TCR beta. En otra realización, la etapa de modificación genética del método se basa en la inactivación de más de dos genes. La modificación genética está preferentemente operada ex vivo utilizando al menos dos guías de ARN que se dirigen a diferentes genes.

Inactivando un gen, se pretende que el gen de interés no se exprese en forma de proteína funcional.

Diseño mediante ingeniería genética de linfocitos T muy activos para inmunoterapia

De acuerdo con la presente invención, los linfocitos T se pueden seleccionar entre el 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⁺. Se pueden extraer de la sangre o derivarse de citoblastos. Los citoblastos pueden ser citoblastos adultos, embricitoblastos, más concretamente, citoblastos no humanos, citoblastos del cordón umbilical, células progenitoras, citoblastos de la médula ósea, citoblastos pluripotentes inducidos, citoblastos totipotentes o hemocitoblastos. Las células humanas representativas son células CD34⁺. Antes de la expansión y de la modificación genética de las células de la invención, se puede obtener una fuente de células de un sujeto mediante una variedad de métodos no limitantes. Se pueden obtener linfocitos T de numerosas fuentes no limitantes, incluyendo células mononucleares de sangre periférica, médula ósea,

tejido de ganglios linfáticos, cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, fluido ascítico, derrame pleural, tejido del bazo, y tumores. En determinadas realizaciones de la presente invención, se puede usar cualquier número de líneas de linfocitos T disponible y conocido por los expertos en la materia. En otra realización, dicha célula puede derivarse de un donante sano, de un paciente al que se ha diagnosticado cáncer o un paciente al que se 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 se abarca también una línea de células obtenidas a partir de un linfocito T transformado de acuerdo con el método anteriormente descrito.

Como un aspecto adicional de la invención, los linfocitos T de acuerdo con la invención pueden diseñarse además mediante ingeniería, preferentemente mediante ingeniería genética, para potenciar su actividad y/o activación, especialmente, modulando la expresión de las proteínas implicadas en la regulación global de los linfocitos, denominados "checkpoints inmunitarios".

Check points inmunitarios

Las personas normalmente expertas en la materia entenderán, que la expresión "checkpoints inmunitarios" significa un grupo de moléculas expresadas por linfocitos T. Estas moléculas sirven eficazmente como "frenos" para modular por defecto o inhibir una respuesta inmunitaria. Las moléculas checkpoint inmunitarias incluyen, aunque no de forma limitativa la de Muerte programada 1 (PD-1, conocida también como PDCD1 o CD279, número de registro: NM_005018), Antígeno 4 de linfocito T citotóxico (CTLA-4, también conocido como CD152, GenBank, número de registro AF414120.1), LAG3 (también conocida como CD223, número de registro: NM_002286.5), Tim3 (también conocida como HAVCR2, GenBank, número de registro: JX049979.1), BTLA (también conocida como CD272, número de registro: NM_181780.3), BY55 (también conocida como CD160, GenBank, número de registro: CR541888.1), TIGIT (también conocida como IVSTM3, número de registro: NM_173799), LAIR1 (también conocida como CD305, GenBank, número de registro: CR542051.1, {Meygaard, 1997 n.º 122}), SIGLEC10 (GeneBank, número de registro: AY358337.1), 2B4 (también conocida como CD244, número de registro: NM_001166664.1), PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22, CD96, CRTAM, SIGLEC7 {Nicol, 1999 n.º 123}, SIGLEC9 {Zhang, 2000 n.º 124; Ikehara, 2004 n.º 125}, TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7, FADD, FAS, TGFBRII, TGFBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1, IL10RA, IL10RB, HMOX2, IL6R, IL6ST, EIF2AK4, CSK, PAG1, SIT1, FOXP3, PRDM1, BATF {Quigley, 2010 n.º 121}, GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3 que inhibe directamente las células inmunitarias. Por ejemplo, CTLA-4 es una proteína de la superficie celular expresada en determinados linfocitos T CD4 y CD8; cuando se encaja por sus ligandos (B7-1 y B7-2) sobre las células presentadoras de antígenos, la función de activación y efectora de los linfocitos T están inhibidas. Por tanto, la presente invención se refiere a un método para diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T, especialmente para inmunoterapia, que comprende modificar genéticamente linfocitos T inactivando al menos una proteína implicada en el checkpoint inmunitario, en particular PD1 y/o CTL-4 o cualesquiera proteínas checkpoint inmunitarias referidas en la Tabla 3.

Tabla 3: Lista de genes que codifican proteínas checkpoint inmunitarias.

Ruta	Genes que pueden inactivarse en la ruta
receptores coinhibidores	CTLA4(CD152)
	CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22
	PDCD1 (PD-1, CD279)
	PDCD1
	CD223 (lag3)
	LAG3
	HAVCR2 (tim3)
	HAVCR2
	BTLA(cd272)
	BTLA
	CD160(by55)
familia IgSF	CD160
	TIGIT
	CD96
	CRTAM
LAIRI(cd305)	LAIR1
SIGLECs	SIGLEC7
	SIGLEC9
CD244(2b4)	CD 244
Receptores de muerte	TRAIL
	TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7
	FAS
	FADD, FAS
Señalización de la citoquina	Señalización de TGF-beta
	TGFBRII, TGFBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1
	Señalización de IL10
	IL10RA, IL10RB, HMOX2
	Señalización de IL6
	IL6R, IL6ST

Ruta		Genes que pueden inactivarse en la ruta
Privación de arginina/triptófano		EIF2AK4
Prevención de la señalización de TCR		CSK, PAG1
		SIT1
Treg inducido	Treg inducido	FOXP3
Factores de transcripción que controlan el agotamiento	Factores de transcripción que controlan el agotamiento	PRDM1 (=blimp1, los heterocigóticos controla la infección vírica crónica mejor que wt o KO condicional)
		BATF
tolerancia mediada por hipoxia	ciclasa guanilada inducida por iNOS	GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3

Linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética que expresan receptores de antígenos quiméricos contra células patológicas

- 5 Los receptores de antígenos quiméricos introducidos en los linfocitos T de acuerdo con la invención pueden adoptar diferentes diseños tales como unos CAR monocatenarios o multicatenarios. Estos diferentes diseños permiten diversas estrategias para mejorar la especificidad y la eficacia de la unión hacia las células patológicas dirigidas. Algunas de estas estrategias se ilustran en las figuras de la presente solicitud. Los CAR monocatenarios son la versión más clásica en la técnica. Las arquitecturas CAR multicatenarias se desarrollaron por el solicitante para permitir la
- 10 modulación de la actividad de los linfocitos T en términos de especificidad e intensidad. Las múltiples subunidades pueden acoger dominios de coestimulación adicionales o mantener dichos dominios a una distancia, así como otros tipos de receptores, mientras que la arquitectura monocatenaria clásica se puede considerar algunas veces como demasiado sensible y menos permisiva a interacciones multiespecíficas.

15 *CAR monocatenario*

- La inmunoterapia adoptiva, que implica la transferencia de linfocitos T específicos de antígenos autólogos generados *ex vivo*, es una estrategia prometedora para tratar las infecciones víricas y el cáncer. Los linfocitos T utilizados para la inmunoterapia adoptiva se pueden generar tanto por expansión de los linfocitos T específicos de antígenos como por
- 20 redirección de los linfocitos T mediante ingeniería genética (Park, Rosenberg et al. 2011). La transferencia de linfocitos T específicos de antígenos víricos es un procedimiento bien establecido utilizado para el tratamiento del trasplante asociado a las infecciones víricas y neoplasias malignas relacionadas con virus raros. De manera similar, el aislamiento y la transferencia de linfocitos T específicos de tumores ha mostrado ser satisfactorio en el tratamiento del melanoma.

- 25 Se han generado satisfactoriamente novedosas especificidades en los linfocitos T mediante la transferencia genética de receptores de linfocitos 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 monocatenario (scFv), que comprende los fragmentos ligeros y variables
- 30 de un anticuerpo monoclonal unidos mediante un enlazador flexible. Los restos de unión basados en los dominios del receptor o el ligando se han usado también satisfactoriamente. Los dominios de señalización para los CAR de primera generación se derivan de la región citoplásmica de CD3zeta o de las cadenas gamma del receptor Fc. Los CAR de primera generación se ha mostrado que redirigen satisfactoriamente la citotoxicidad de los linfocitos T. Sin embargo, fracasaron en proporcionar una expansión prolongada y una actividad antitumoral *in vivo*. Los dominios de señalización procedentes de moléculas coestimuladoras que incluyen CD28, OX-40 (CD134), y 4-1BB (CD137) se han añadido
- 35 solos (segunda generación) o en combinación (tercera generación) para potenciar la supervivencia y aumentar la proliferación de linfocitos T modificados por CAR. Los CAR han permitido de forma satisfactoria redirigir los linfocitos T contra antígenos expresados en la superficie de células tumorales procedentes de diversas neoplasias malignas, incluyendo linfomas y tumores sólidos (Jena, Dotti et al. 2010).

- 40 Además del CAR que se dirige al marcador antigénico, que es común con las células patológicas y los linfocitos T, tales como CD38, Se prevé que exprese CAR adicionales dirigidos hacia otros marcadores antigénicos no necesariamente expresados por los linfocitos T, con el fin de potenciar la especificidad de los linfocitos T.

- 45 Los ejemplos de receptores de antígenos quiméricos que se pueden expresar adicionalmente que se pueden expresar adicionalmente por los linfocitos T para crear células multiespecíficas, son receptores antigénicos dirigidos contra marcadores antigénicos de mieloma múltiple o leucemia linfoblástica, tales como TNFRSF17 (UNIPROT Q02223), SLAMF7 (UNIPROT Q9NQ25), GPRC5D (UNIPROT Q9NZD1), FKBP11 (UNIPROT Q9NYL4), KAMP3, ITGA8 (UNIPROT P53708), y FCRL5 (UNIPROT Q68SN8).

- 50 Como ejemplos adicionales, el antígeno de la diana puede ser de cualquier agrupación de moléculas de diferenciación (por ejemplo, CD16, CD64, CD78, CD96, CLL1, CD116, CD117, CD71, CD45, CD71, CD123 y CD138), un antígeno

superficial asociado a tumor, tal como ErbB2 (HER2/neu), antígeno carcinoembrionario (CEA), molécula de adhesión a células epiteliales (EpCAM), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), EGFR variante III (EGFRvIII), CD19, CD20, CD30, CD40, disialogangliósido GD2, mucina del conducto epitelial, gp36, TAG-72, glicoesfingolípidos, antígeno asociado a glioma, β -gonadotropina coriónica humana, alfafetoproteína (AFP), AFP reactiva a lectina, tiroglobulina, RAGE-1, MN-CA IX, transcriptasa inversa de la telomerasa humana, RU1, RU2 (AS), carboxil esterasa intestinal, mut hsp70-2, M-CSF, prostase, antígeno específico de prostase (AEP), PAP, NY-ESO-1, LAGA-1a, p53, prostateína, PSMA, supervivencia y telomerasa, antígeno tumoral-1 de carcinoma de próstata (PCTA-1), MAGE, ELF2M, neutrófilo elastasa, efrina B2, CD22, factor de crecimiento de la insulina (IGF1)-I, IGF-II, receptor de IGF1, mesotelina, una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) que presenta un epítipo antigénico específico de tumor, 5T4, ROR1, Nkp30, NKG2D, antígenos de tumores estromales, el extradominio A (EDA) y el extradominio B (EDB) de la fibronectina y el dominio A1 de tenascina-C (TnC A1) y la proteína asociada a fibroblasto (fap); un antígeno específico de linaje o específico de tejido tal como CD3, CD4, CD8, CD24, CD25, CD33, CD34, CD133, CD138, CTLA-4, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), GM-CSF, receptores de citoquinas, endoglina, una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), BCMA (CD269, TNFRSF 17), o un antígeno superficial específico de virus tal como un antígeno específico del VIH (tal como VIH gp120); un antígeno específico del VEB, un antígeno específico del CMV, un antígeno específico del VPH, un antígeno específico del virus de Lasse, un antígeno específico del virus de la gripe así como cualquier derivado o variante de estos marcadores superficiales. Los antígenos no son necesariamente antígenos de marcadores superficiales, pero pueden ser también antígenos pequeños endógenos presentados por HLA de clase I en la superficie de las células.

A modo de ejemplos, la presente invención abarca CAR monocatenarios que se dirigen específicamente al marcador de la superficie celular, tales como CD38, CS1 y/o CD70 como se describe en los ejemplos, junto con una inactivación de los genes que codifican respectivamente CD38, CS1 y/o CD70 en las células que expresan dichos CARS.

Como ejemplo específico, las cadenas VH y VL del scFv dirigido contra CD38 comparten al menos un 80%, preferentemente 90% y más preferentemente 95% de identidad con respectivamente la SEQ ID NO:10 y 12 y la SEQ ID NO:11 y 13.

Como ejemplo específico, el anticuerpo o la unión al epítipo en el antígeno CD38, caracterizada porque dicho anticuerpo o fragmento de unión a epítipo del mismo comprende al menos una cadena pesada y al menos una cadena ligera, en el que dicha cadena pesada comprende tres regiones determinantes de la complementariedad secuencial que tienen secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NOS: 14-17, y en las que dicha cadena ligera comprende tres regiones determinantes de la complementariedad secuencial que tienen secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NOS: 21-23.

En otro ejemplo específico, el anticuerpo o la unión al epítipo en el antígeno CD38, caracterizada porque dicho anticuerpo o fragmento de unión a epítipo del mismo comprende al menos una cadena pesada y al menos una cadena ligera, en el que dicha cadena pesada comprende tres regiones determinantes de la complementariedad secuencial que tienen secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NOS: 18-20, y en las que dicha cadena ligera comprende tres regiones determinantes de la complementariedad secuencial que tienen secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NOS: 24-26.

En otro ejemplo específico, las cadenas VH y VL del scFv dirigido contra CS1 comparten al menos un 80%, preferentemente 90% y más preferentemente 95% de identidad con respectivamente la SEQ ID NO:38-40-42-44-46 y la SEQ ID NO: 39-41-42-45-46.

En otro ejemplo más específico, las cadenas VH y VL del scFv dirigido contra CD70 comparten al menos un 80%, preferentemente un 90% y más preferentemente un 95% de identidad al nivel del polinucleótido o ácido nucleico con respectivamente la SEQ ID NO:81-82; 85-86; 89-91 y la SEQ ID NO: 83-84; 87-88; 91-92.

En una realización, la invención abarca un polinucleótido que codifica un único CAR dirigido contra CD38 que comparte al menos un 80%, preferentemente un 90% y más preferentemente un 95% de identidad con la SEQ ID NO: 35-37. En otra realización, la invención abarca un polinucleótido que codifica un único CAR dirigido contra CS1 que comparte al menos un 80%, preferentemente un 90% y más preferentemente un 95% de identidad con la SEQ ID NO: 48-62.

En otra realización más, la invención abarca un polinucleótido que codifica un único CAR dirigido contra CD70 que comparte al menos un 80%, preferentemente un 90% y más preferentemente un 95% de identidad con la SEQ ID NO: 93-101.

La presente invención se dirige más concretamente a los linfocitos T que están provistos con un CAR que presenta alguna identidad con aquellos descritos en la presente solicitud y que transportaría mutaciones inducidas por la endonucleasa de corte raro en un gen que codifica el marcador celular dirigido por dicha CAR (es decir, el CAR presenta afinidad con el producto de dicho gen inactivado). Por identidad se entiende al menos 70%, preferentemente 80%, más preferentemente 90% e incluso más preferentemente 95% de identidad con el polinucleótido o polipéptido como se determina por el software tal como FASTA, o BLAST que está disponible como parte del paquete de análisis de la secuencia GCG (University of Wisconsin, Madison, Wis.). Las "identidades" de BLASTP muestran el número y

la fracción de restos totales en las parejas de secuencias de alta puntuación que son idénticas. Las secuencias de aminoácidos que tienen estos grados de identidad o similitud o cualquier grado intermedio de identidad o similitud con las secuencias de aminoácidos divulgadas en el presente documento se contemplan y están abarcadas por esta divulgación. Se aplica lo mismo con respecto a las secuencias de polinucleótidos utilizando BLASTN.

CAR multisubunidad

Los receptores de antígenos quiméricos de la técnica anterior introducidos en los linfocitos T están formados por polipéptidos monocatenarios que necesitan el agregado en serie de los dominios de señalización. Sin embargo, el movimiento de los dominios de señalización desde su posición en la yuxtamembrana natural puede interferir con su función. para superar este inconveniente, el solicitante diseñó recientemente un CAR multicatenario derivado de FcεRI para permitir la posición normal de la yuxtamembrana de todos los dominios de señalización relevantes. En esta nueva arquitectura, el dominio de unión a IgE de alta afinidad de la cadena FcεRI alfa está sustituido por un dominio de unión a ligando extracelular tal como scFv para redirigir la especificidad de los linfocitos T contra las dianas celulares y las colas de los extremos N y/o C de la cadena FcεRI beta se usan para colocar señales coestimuladoras en las posiciones normales de la yuxtamembrana.

Por consiguiente, el CAR expresado por los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con la invención puede ser un receptor de antígeno quimérico multicatenario (CAR) adaptado particularmente para la producción y expansión de los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética de la presente invención. Dichos CAR multicatenarios comprenden al menos dos de los siguientes componentes:

- a) un polipéptido que comprende el dominio transmembrana de la cadena FcεRI alfa y un dominio de unión a ligando extracelular,
- b) un polipéptido que comprende una parte de la cola citoplásmica del extremo N y el extremo C y el dominio transmembrana de la cadena FcεRI beta y/o
- c) al menos dos polipéptidos que comprende cada uno una parte de la cola intracitoplásmica y el dominio transmembrana de la cadena FcεRI gamma, por lo cual, diferentes polipéptidos se multimerizan juntos de forma espontánea para formar CAR diméricos, triméricos o tetraméricos.

De acuerdo con dichas arquitecturas, los dominios de unión a ligando y los dominios de señalización nacen en polipéptidos separados. Los diferentes polipéptidos se anclan en la membrana en proximidad cercana permitiendo interacciones entre sí. En dichas arquitecturas, los dominios de señalización y coestimuladores pueden estar en posiciones en la yuxtamembrana (es decir, adyacentes a la membrana celular en el lado interno de esta), que se considera que permite la función mejorada de los dominios coestimuladores. La arquitectura multisubunidad ofrece también más flexibilidad y posibilidades de diseñar CAR con más control sobre la activación de los linfocitos T. Por ejemplo, es posible incluir algunos dominios de reconocimiento de antígenos extracelulares que tienen diferente especificidad para obtener una arquitectura CAR multiespecífica. Es también posible controlar la relación relativa entre las diferentes subunidades en el CAR multicatenario. Este tipo de arquitectura se ha descrito recientemente por el solicitante en el documento PCT/US2013/058005 (WO2014/039523).

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

El CAR multicatenario puede comprender algunos dominios de unión a ligando extracelulares, para unir simultáneamente diferentes elementos en la diana aumentando por tanto la activación y la función de los linfocitos T. En una realización, los dominios de unión a ligando extracelulares pueden colocarse en tándem o en el mismo polipéptido transmembrana, y opcionalmente pueden separarse por un enlazador. En otra realización, dichos dominios de unión a ligando extracelulares diferentes pueden colocarse en diferentes polipéptidos transmembrana que componen el CAR multicatenario. En otra realización, la presente invención se refiere a una población de CAR multicatenarios que comprenden cada uno diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. en particular, la presente invención se refiere a un método de diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T que comprende proporcionar un linfocito T y que expresan en la superficie de dicha célula una población de CAR multicatenarios comprendiendo cada uno diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. En otra realización concreta, la presente invención se refiere a un método de diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T que comprende proporcionar un linfocito T e introducir en dicha célula polinucleótidos que codifican polipéptidos que componen una población de CAR multicatenarios comprendiendo cada uno diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. En una realización concreta, el método de diseñar mediante ingeniería genética un linfocito T comprende expresar en la superficie de la célula al menos una parte de una cadena FcεRI beta y/o gamma fusionada con un dominio de transducción de la señal y algunas partes de las cadenas FcεRI alfa fusionadas a diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. En una realización más concreta, dicho método comprende introducir en dicha célula al menos un polinucleótido que codifica

una parte de la cadena FcεRI beta y/o gamma fusionada a un dominio de transducción de la señal y algunas cadenas FcεRI alfa fusionadas a diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. Por población de CAR multcatenarios, se entiende al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis o más CAR multcatenarios comprendiendo cada uno diferentes dominios de unión a ligando extracelulares. Los diferentes dominios de unión a ligando extracelulares de acuerdo con la presente invención pueden unirse preferentemente de forma simultánea a diferentes elementos en la diana aumentando por tanto la activación y función de los linfocitos T.

La presente invención se refiere también a un linfocito T aislado que comprende una población de CAR multcatenarios que comprenden cada uno diferentes dominios de unión a ligando extracelulares.

El dominio de transducción de la señal o dominio de señalización intracelular del CAR multcatenario de la invención es responsable de la señalización intracelular tras la unión del dominio de unión a ligando extracelular con la diana dando como resultado la activación de los linfocitos T y la respuesta inmunitaria. En otras palabras, el dominio de transducción de la señal es responsable de la activación de al menos una de las funciones efectoras normales del linfocito T en la que se expresa el CAR multcatenario. Por ejemplo, la función efectora de un linfocito T puede ser una actividad citolítica o actividad auxiliar que incluye la secreción de citoquinas.

En la presente solicitud, la expresión " dominio de transducción de la señal" se refiere a la porción de una proteína que transduce la señal de la función de señalización efectora y dirige la célula para llevar a cabo una función especializada.

Los ejemplos preferidos de dominio de transducción de la señal para su uso en CAR monocatenarios o multcatenarios pueden ser las secuencias citoplásmicas del receptor de Fc o del receptor de los linfocitos T y los correceptores que actúan en concierto para iniciar la transducción de la señal tras el encaje del receptor antigénico, así como cualquier derivado o variante de estas secuencias y cualquier secuencia sintética que tenga la misma capacidad funcional. El dominio de transducción de la señal comprende dos clases distintas de secuencia de señalización citoplásmica, aquellas que inician la activación primaria dependiente del antígeno, y aquellas que actúan de una manera independiente al antígeno para proporcionar una señal secundaria o coestimuladora. La secuencia de señalización citoplásmica primaria puede comprender motivos de señalización que se conocen como motivos de activación basados en la tirosina inmunorreceptora de los ITAM. Los ITAM son motivos de señalización bien definidos que se encuentran en la cola intracitoplásmica de una variedad de receptores que sirven como sitios de unión para las tirosina quinasas de clase syk/zap70. Los ejemplos de ITAM utilizados en la invención pueden incluir como ejemplos no limitantes aquellos derivados de TCRzeta, FcRgamma, FcRbeta, FcRépsilon, CD3gamma, CD3delta, CD3épsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b y CD66d. En una realización preferida, el dominio de transducción de la señalización del CAR multcatenario puede comprender el dominio de señalización CD3zeta, o el dominio intracitoplásmico de las cadenas FcεRI beta o gamma.

En una realización concreta, el dominio de transducción de la señal del CAR multcatenario de la presente invención comprende una molécula de señalización coestimuladora. Una molécula coestimuladora es una molécula de la superficie celular diferente de un receptor antigénico o sus ligandos que se requiere para una respuesta inmunitaria eficaz.

Los dominios de unión a ligando pueden ser cualquier receptor antigénico utilizado anteriormente, y referido a, con respecto a un CAR monocatenario referido en la bibliografía, en particular scFv de los anticuerpos monoclonales. Se incorporan por referencia los CAR biespecíficos o multiespecíficos que se describen en el documento WO 2014/4011988.

De forma similar a la descrita anteriormente con respecto a los CAR monocatenarios, la presente invención abarca linfocitos T provistos con CAR multcatenarios que se dirigen específicamente a un marcador superficial celular tal como CD38, CS1 o CD70. De acuerdo con una realización preferida de la invención, los CAR descritos anteriormente se expresan en linfocitos T, mientras que la inactivación de los genes endógenos que codifican dicho(s) marcador(es) superficial(es) está inducida por la expresión de una endonucleasa de corte raro.

Activación y expansión de linfocitos T

El método de acuerdo con la invención incluye generalmente una etapa adicional de activar y/o expandir los linfocitos T. Esto se puede llevar a cabo antes o después de la modificación genética de los linfocitos T, utilizando los métodos que se describen, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos 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 en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 20060121005. De acuerdo con estos métodos, Los linfocitos T de la invención pueden expandirse por contacto con una superficie que tiene unida a la misma un agente que estimula una señal asociada con un complejo CD3 TCR y un ligando que estimula una molécula coestimuladora sobre la superficie de los linfocitos T.

En particular, las poblaciones de linfocitos T pueden estimularse *in vitro* tal como por contacto con un anticuerpo dirigido contra CD3, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un anticuerpo dirigido contra CD2 inmovilizado sobre una superficie, o por contacto con un activador de la proteína quinasa C (por ejemplo, briostatina) junto con un

ionóforo de calcio. Para la coestimulación de una molécula accesoria sobre la superficie de los linfocitos T, se usa un ligando que se une a la molécula accesoria. Por ejemplo, una población de linfocitos T puede ponerse en contacto con un anticuerpo dirigido contra CD3 y un anticuerpo dirigido contra CD28, en condiciones adecuadas para estimular la proliferación de los linfocitos T. Para estimular la proliferación tanto de los linfocitos T CD4+ como de los linfocitos T CD8+, un anticuerpo dirigido contra CD3 y un anticuerpo dirigido contra CD28. Por ejemplo, los agentes que proporcionan cada señal pueden estar en solución o acoplados a una superficie. Como puede apreciar fácilmente las personas normalmente expertas en la materia, la relación de partículas a células puede depender del tamaño de partículas relativo a la célula diana. En realizaciones adicionales de la presente invención, las células, tales como linfocitos T, se combinan con perlas revestidas con un agente, las perlas y las células se separan posteriormente, y a continuación se cultivan las células. En una realización alternativa, antes del cultivo, las perlas y las células revestidas con agente no se separan, sino que se cultivan juntas. Las proteínas de la superficie celular pueden estar ligadas permitiendo que las perlas paramagnéticas a las cuales se unen anti-CD3 y anti-CD28 (3x28 perlas) para poner en contacto los linfocitos T. en una realización, las células (por ejemplo, 4 a 10 linfocitos T) y las perlas (por ejemplo, las perlas paramagnéticas DYNABEADS[®] M-450 CD3/CD28 T en una relación de 1:1) se combinan en un tampón, preferentemente PBS (sin cationes divalentes tales como calcio y magnesio). De nuevo, las personas normalmente expertas en la materia pueden apreciar fácilmente cualquier concentración celular que pueda usarse. La mezcla puede cultivarse durante varias horas (aproximadamente 3 horas) a aproximadamente 14 días o cualquier valor entero horario comprendido entre los anteriores. En otra realización, la mezcla puede cultivarse durante 21 días. Las condiciones adecuadas para el cultivo de linfocitos T incluyen un medio adecuado (por ejemplo, medio esencial mínimo o medio RPMI 1640 o, X-vivo 5, (Lonza)) que puede contener los factores necesarios para la proliferación y la viabilidad, incluyendo suero (por ejemplo, suero de feto de bovino o suero humano), interleuquina-2 (IL-2), insulina, IFN- γ , 1L-4, 1L-7, GM-CSF, -10, -2, 1L-15, TGF β , y TNF- α o cualesquiera otros aditivos para el crecimiento de las células conocidos por el experto en la materia. Otros aditivos para el crecimiento de las células incluyen, aunque no de forma limitativa, un tensioactivo, plasmanate, y agentes reductores tales como N-acetil-cisteína y 2-mercaptoetanol. Los medios pueden incluir RPMI 1640, A1M-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 1, y X-Vivo 20, Optimizer, con aminoácidos añadidos, piruvato de sodio, y vitaminas, tanto exento de suero como suplementado con una cantidad adecuada de suero (o plasma) o un conjunto definido de hormonas, y/o una cantidad de citoquina(s) suficiente para el crecimiento y la expansión de los linfocitos T. Antibióticos, por ejemplo, penicilina y estreptomycin, se incluyen solo en cultivos experimentales, no en cultivos de células que son para infundirse en un sujeto. Las células diana se mantienen en las condiciones necesarias para soportar el crecimiento, por ejemplo, una temperatura (por ejemplo, 37° C) y atmósfera (por ejemplo, aire más CO₂ al 5%) adecuadas. Los linfocitos T que se han expuesto a tiempos de estimulación variados pueden presentar diferentes características.

En otra realización concreta, dichas células pueden expandirse mediante cultivo simultáneo con tejido o células. Dichas células pueden también expandirse *in vivo*, por ejemplo, en la sangre del sujeto tras administrar dichas células en el sujeto.

Aplicaciones terapéuticas

Los linfocitos T obtenibles mediante los diferentes métodos descritos anteriormente se pretende que se usen como un medicamento para tratar, entre otros, cáncer, infecciones o enfermedades inmunitarias en un paciente que lo necesite.

Dicho tratamiento puede ser mejorante, curativo o profiláctico. Puede ser tanto parte de un tratamiento de inmunoterapia autóloga como parte de un tratamiento de inmunoterapia alogénica. Por autólogo, se entiende que las células, la línea de células o la población de células usadas para tratar pacientes se originan a partir de dicho paciente o de un donante compatible con el antígeno de leucocitos humano (HLA). Por alogénico se entiende que las células o la población de células usadas para tratar pacientes no se originan de dicho paciente sino de un donante.

Los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con uno de los métodos anteriores se pueden combinar, congelar, y administrar a uno o varios pacientes. Cuando se preparan de forma no alorreactiva, están disponibles como un producto terapéutico "disponible en existencias", lo que significa que se pueden infundir de manera universal a pacientes que lo necesitan.

Dichos tratamientos se prevén principalmente para los pacientes a los que se ha diagnosticado cáncer, infección vírica, trastornos autoinmunitarios o enfermedad de injerto contra hospedador (GvHD). Los cánceres son preferentemente leucemias y linfomas, que tienen tumores fluidos, pero se pueden referir también a tumores sólidos. Los tipos de cánceres que se van a tratar con los CAR de la invención incluyen, aunque no de forma limitativa, carcinoma, blastoma, y sarcoma y determinadas leucemias o neoplasias malignas linfoides, tumores benignos y malignos y neoplasias malignas por ejemplo, sarcomas, carcinomas, y melanomas. Se incluyen también tumores/cánceres en personas adultas y tumores/cánceres pediátricos.

La presente invención proporciona en las Tablas 4 a 14 ejemplos de marcadores antigénicos, que pueden dirigirse con las células diseñadas mediante ingeniería genética de la invención para tratar diferentes tipos de cánceres.

Los marcadores antigénicos preferidos usados para la inmunoterapia de la presente invención son, de forma más concreta, CD38, CD319 (CS1) y CD70.

Los linfocitos T actuales, cuando se proveen con los CAR específicos dirigidos contra las propias células inmunitarias del paciente, especialmente los linfocitos T, permiten la inhibición o regulación de dichas células, lo que es una etapa clave para tratar las enfermedades autoinmunitarias, tales como la poliartritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren, esclerodermia, fibromialgia, miositis, espondilitis anquilosante, diabetes de tipo

- 5 insulino dependiente, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, enfermedad de Crohn, enfermedad celíaca, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y esclerosis múltiple (EM). Por consiguiente, la presente invención abarca los linfocitos T de la invención para su uso en un método para tratar una enfermedad inmunitaria dirigiendo dichos linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética contra los propios linfocitos T del paciente.
- 10 Los anteriores tratamientos pueden tener lugar en combinación con una o más terapias seleccionadas entre el grupo de terapias de anticuerpos, quimioterapia, terapia de citoquinas, terapia de células dendríticas, terapia génica, terapia hormonal, terapia de luz láser y radioterapia.

Los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética tal como se ha descrito anteriormente, cuando se vuelven resistentes a los fármacos quimioterapéuticos y a los fármacos inmunosupresores que se usan como atención médica habitual, especialmente metotrexato y la combinación de fludarabina y ciclofosfamida, son particularmente adecuados para tratar varias formas de cáncer. De hecho, la presente invención se basa preferentemente en células o poblaciones de células. En este aspecto, se espera que la quimioterapia y/o el tratamiento inmunosupresor deba ayudar la selección y la expansión de los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética *in vivo*.

- 20 En determinadas realizaciones de la presente invención, las células son para su uso en la administración a un paciente junto con (por ejemplo, antes, simultáneamente o después) cualquier número de modalidades de tratamiento relevantes, incluyendo, aunque no de forma limitativa el tratamiento con agentes, tales como la terapia antivírica, Tratamiento con cidofivir e interleuquina-2, citarabina (conocida también como ARA-C) o naltaliziimab para pacientes con EM o tratamiento efalizimab para pacientes con psoriasis u otros tratamientos para pacientes con PML. En realizaciones adicionales, los linfocitos 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 CAMPATH, anticuerpos dirigidos contra CD3 u otras terapias de anticuerpos, citoxina, fludaribina, ciclosporina, FK506, rapamicina, ácido micoplenólico, esteroides,
- 25 FR901228, citoquinas, e irradiación. Estos fármacos inhiben tanto la fosfatasa dependiente de calcio, calcineurina (ciclosporina y FK506) como inhiben la quinasa p70S6 que es importante para la señalización inducida por el factor de crecimiento (rapamicina) (Liu et al., Cell 66:807-815, 1 1; Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991; Bierer et al., Citrr. Opin. mm n. 5:763-773, 93). En una realización adicional, las composiciones celulares de la presente invención son para su uso en la administración a un paciente junto con (por ejemplo, antes, simultáneamente o después) del trasplante de médula ósea, la terapia supresora de linfocitos T que utiliza cualquiera de los agentes quimioterapéuticos tales como, fludarabina, radioterapia de haces externos (XRT), ciclofosfamidias, o anticuerpos tales como OKT3 o CAMPATH, En otra realización, las composiciones celulares de la presente invención son para su uso en la administración tras la terapia supresora de linfocitos B tal como los agentes que reaccionan con CD20, por ejemplo, Rituxan. Por ejemplo, los sujetos pueden experimentar un tratamiento convencional con una alta dosis de
- 30 quimioterapia seguido por transporte de citoblastos de sangre periférica. En determinadas realizaciones, tras el trasplante, los sujetos pueden recibir una infusión de linfocitos T expandidos de la presente invención. En un ejemplo adicional, las células expandidas se administran antes o tras la cirugía. Dichas células modificadas obtenidas mediante uno cualquiera de los métodos descritos aquí pueden ser para su uso en el tratamiento de pacientes que lo necesitan frente al rechazo de hospedador contra injerto y la enfermedad de injerto contra hospedador (GvHD); por tanto, en el alcance de la presente invención son células modificadas obtenibles mediante el método de la invención para su uso en un método de tratar pacientes que lo necesitan frente al rechazo de hospedador contra injerto (HvG) y la enfermedad de injerto contra hospedador (GvHD) que comprende tratar a dicho paciente administrando a dicho paciente una cantidad eficaz de células modificadas que comprende los genes TCR alfa y/o TCR beta inactivados.

- 35 Dichos linfocitos T de la invención pueden experimentar una expansión sólida de linfocitos T *in vivo* tras la administración a un paciente, y pueden persistir en los fluidos corporales durante un lapso de tiempo prolongado, preferentemente durante una semana, más preferentemente durante 2 semanas, incluso más preferentemente durante al menos un mes. Aunque los linfocitos T de acuerdo con la invención se espera que persistan durante estos periodos, se pretende que su duración en el cuerpo del paciente no exceda de un año, preferentemente 6 meses, más
- 40 preferentemente 2 meses, e incluso más preferentemente un mes.

La administración de las células o la población de células de acuerdo con la presente invención puede llevarse a cabo de una manera convencional, incluyendo por inhalación mediante aerosol, inyección, ingestión, transfusión, implante 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. En una realización, las composiciones celulares de la presente invención se administran preferentemente mediante inyección intravenosa.

- 60 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, preferentemente 10^5 a 10^6 células/kg de peso corporal incluyendo todos los valores enteros de cantidades de células comprendidos en los intervalos citados. Las células o población de células se pueden administrar

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 durante un lapso de tiempo. El calendario de administración está comprendido en el criterio del médico a cargo del tratamiento y depende de la dolencia clínica del paciente. Las células o población de células se pueden obtener a partir de cualquier fuente, tal como un banco de sangre o un donante. Aunque las necesidades individuales varían, la determinación de los intervalos óptimos de cantidades eficaces de un tipo de célula dado para una enfermedad o dolencias concretas se encuentra comprendido en los conocimientos del experto en la materia. una cantidad eficaz significa una cantidad que proporciona un beneficio terapéutico o profiláctico deseado. La dosificación administrada será dependiente de la edad, la salud y el peso del receptor, el tipo de tratamiento concurrente, si lo hubiera, la frecuencia del tratamiento y la naturaleza del efecto deseado.

Dicha cantidad eficaz de células o composición que comprende aquellas células puede administrarse por vía parenteral. Dicha administración puede ser una administración intravenosa. Dicha administración puede llevarse a cabo directamente mediante inyección en un tumor.

Identificación del marcador antigénico superficial expresado en la superficie de los linfocitos T, mientras se expresa en exceso es tumores sólidos implicados en diferentes tipos de cánceres (Tablas 5 a 13)

Los inventores usaron datos de la micromatriz BioGPS procedentes de un panel de datos de una micromatriz de tejidos cancerosos normales (Atlas de genes U133A/GNF1H humanos) que se puede descargar de los datos uniprot de BioGPS (Tumores primarios humanos (U95)) que contienen la localización subcelular.

Los inventores dibujaron la distribución de valores provenientes de tejidos normales y determinaron un valor umbral de 5 para la expresión relativa.

Los inventores exploraron todos los genes ensayados con micromatrices (44.000 sondas que representan aproximadamente 13.000 genes) y comprobaron su localización en la membrana (se descartaron las proteínas no denominadas proteínas de membranas). Se comprobó la expresión de los linfocitos T CD8+ a partir de la base de datos BioGPS. Los genes se relacionaron de acuerdo con el tipo de cáncer cuando la expresión correspondiente fue la más alta (Tablas 5 a 13).

Identificación del marcador antigénico superficial expresado en la superficie de los linfocitos T, mientras se expresa en exceso en diferentes tumores fluidos de la sangre (Tabla 14)

Para este estudio, no estuvieron disponibles los datos de secuenciación del ARN y por tanto se usaron datos de micromatrices que se obtuvieron a partir de un gran estudio del consorcio MILE (Innovaciones de micromatrices en leucemia), implicando 11 laboratorios (http://www.ngsl.org.uk/wessex/downloads/tm08/TM08-S4-I_KenMills.pdf - Haferlach et al. 2010, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20406941>). Estos datos brutos incluyen resultados de LLA (leucemia linfoblástica aguda), LMA (leucemia mielógena aguda), LLC (leucemia linfoblástica crónica) y LMC (leucemia mielógena crónica) y SMD (síndrome mielodisplásico). Los inventores usaron también de forma normal los datos de uniprot para la localización subcelular.

Los inventores dibujaron en primer lugar la distribución global de los valores de todos los genes en todos los tejidos estudiados. A continuación, para tener una idea del nivel necesario para la expresión, los inventores tomaron una lista de genes que se expresaban en algunos tumores fluidos y para los cuales están disponibles anticuerpos terapéuticos (CD52, CD 20, CD33, CD19, CD25, CD44, CD47, CD96, CD116, CD117, CD135, TIM-3). Para cada gen, los inventores observaron el valor obtenido en el tumor en que se expresaba. A continuación, los inventores calcularon el promedio para cada tumor y el par de genes para el cual el gen parece proporcionar una proteína de membrana celular (localización de la membrana celular + descripción de al menos un dominio transmembrana en la proteína). Los inventores descartaron genes para los cuales la expresión en todos los tejidos estuvo por debajo de este umbral de 0,15. Los inventores enumeraron y clasificaron en la Tabla 14, aquellos genes cuya expresión relativa en los linfocitos T estuvo por encima de 0,2. Por lo tanto, La Tabla 4 proporciona presuntos candidatos de marcadores antigénicos para el direccionamiento de células de tumores fluidos según la invención, en particular, para tratar la LLA, LMA, LLC, LMC y SMD.

Ejemplo de etapas para diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T de acuerdo con la invención para inmunoterapia

Para una mejor comprensión de la invención, se proporciona a continuación un ejemplo de los pasos a seguir para producir linfocitos T dirigidos contra las células de leucemia positivas para CD38:

1. Proporcionar linfocitos T a partir de un cultivo celular o procedentes de una muestra de sangre de un paciente individual o de un banco de sangre y activar dichos linfocitos T utilizando perlas de activador C28 dirigidas contra CD3 (Dynabeads®). Las perlas proporcionan las señales primarias y las señales coestimuladoras que se requieren para la activación y expansión de los linfocitos T.

2. Transducir dichas células con un vector retroviral que comprende un transgén que codifica un receptor de un antígeno quimérico consistente en la fusión del dominio de activación CD3zeta, Dominio de coestimulación 4-1BB, un dominio transmembrana y una bisagra procedente de CD28 fusionados con una secuencia que codifica la cadena variable de un anticuerpo dirigido contra CD38. Para la mejora de la seguridad del linfocito T transformado, puede introducirse adicionalmente un gen sensible a rituximab como se describe en el documento WO 2013/153391 en el vector lentiviral separados por dos secuencias de separación de T2A.

3. (opcionalmente) Diseñar mediante ingeniería genética linfocitos T no alorreactivos y/o resistentes:

a) Es posible inactivar TCR alfa en dichas células para eliminar el TCR desde la superficie de la célula y evitar el reconocimiento del tejido hospedador como extraño por el TCR allogénico y evitar por tanto la GvHD siguiendo los protocolos que se muestran en el documento WO 2013/176915.

b) Es también posible inactivar un gen que codifica la diana para un agente inmunosupresor o un fármaco quimioterapéutico para volver dichas células resistente al tratamiento inmunosupresor o quimioterapéutico para evitar el rechazo al injerto sin alterar los linfocitos T trasplantados. En este ejemplo, la diana de los agentes inmunosupresores es CD52 y el agente inmunosupresor es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra CD52 (por ejemplo: Alemtuzumab) como se describe en el documento WO 2013/176915.

4. Se llevó a cabo la inactivación del gen electroporando linfocitos T con ARNm que codifica la endonucleasa específica de TAL (TALEN™ - Cellectis, 8 rue de la Croix Jarry, Francia). Los linfocitos T inactivados se clasificaron utilizando perlas magnéticas. Por ejemplo, Los linfocitos T que expresan todavía el gen dirigido (por ejemplo, CD38, CD70 y CD70) se pueden eliminar mediante fijación sobre una superficie sólida, y las células inactivadas no se exponen al estrés de pasarse a través de una columna. Este método aumenta ligeramente la concentración de linfocitos T adecuados diseñados mediante ingeniería genética.

5. Expansión *in vitro* de linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética antes de la administración a un paciente o *in vivo* tras la administración a un paciente mediante la estimulación del complejo CD3. Antes de la etapa de administración, los pacientes pueden someterse a un tratamiento inmunosupresor tal como CAMPATH1-H, un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra CD52.

6. Opcionalmente, se exponen dichas células con anticuerpos inespecíficos *ex vivo* antes de la administración a un paciente o *in vivo* tras la administración a un paciente para poner las células diseñadas mediante ingeniería genética en proximidad con un antígeno diana.

Análisis funcional de los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética electroporados con un ARNm monocistrónico que codifica un receptor de antígeno quimérico monocatenario dirigido contra CD38 (CAR CD38):

Para verificar que el genoma diseñado mediante ingeniería genética no afecta la capacidad de los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética de presentar actividad antitumoral, especialmente, cuando se proporciona con un receptor de un antígeno quimérico (CAR CD38), Los linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética se incubaron durante 4 horas con células Daudi que expresan CD38 en su superficie. La regulación en exceso de la superficie celular de CD107a, un marcador de la liberación de gránulos citotóxicos por los linfocitos T (denominado desgranulación) se midió mediante un análisis de citometría de flujo (Betts, Brenchley et al. 2003).

24 horas después de la electroporación, se tiñeron las células con un colorante de viabilidad fijable eFluor-780 y un fragmento F(ab')₂ de cabra conjugado con PE dirigido IgG de ratón específico para evaluar la expresión de la superficie celular del CAR en las células vivas. La gran mayoría de linfocitos T vivos alterados genéticamente por CD38, expresan el CAR en su superficie. Los linfocitos T se cultivaron simultáneamente con células Daudi (CD38⁺) 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).

Los resultados mostraron que CD38 alteró los linfocitos T manteniendo la misma capacidad de desgranular en respuesta a PMA/ionomicina (control positivo) o células Daudi CD38⁺. La regulación en exceso de CD107 es dependiente de la presencia de un CD38⁺. Estos datos sugieren que el genoma diseñado mediante ingeniería genética de los linfocitos T actuales no tuvo impacto negativo sobre la capacidad de los linfocitos T de desarrollar una respuesta antitumoral controlada.

Tabla 4: Agrupación de marcadores antígenicos de diferenciación (CD) que se encuentra que se expresan sobre la superficie de los linfocitos T

Antígeno	Otros nombres	Estructura	Distribución principal	Función
CD1a	T6	IgSF, análogo a MHC	timocitos corticales, células de Langerhans, DC	presentación de antígenos, Con beta2m
CD1b	T6	IgSF, análogo a MHC	timocitos corticales, células de Langerhans, DC	presentación de antígenos, Con beta2m
CD1c	T6	IgSF, análogo a MHC	timocitos corticales, células de Langerhans, DC, subgrupo de linfocitos B	presentación de antígenos, Con beta2m
CD1d		IgSF, análogo a MHC	epitelio intestinal, subgrupo de linfocitos B, mono bajas, DC	presentación de antígenos, Con beta2m
CD3 gamma, CD3 delta	T3	IgSF	T, subgrupo de timocitos	con TCR, expresión superficial de TCR / transducción de la señal
CD3 épsilon	T3	IgSF	T, subgrupo de timocitos	con TCR, expresión superficial de TCR / transducción de la señal
CD4	T4	IgSF	subgrupo de timocitos, subgrupo de linfocitos T, mono, mac	correceptor de MHC de clase II, receptor de VIH, diferenciación / activación de linfocitos T
CD5	T1, Tp67	Secuestrante del R SF	timocitos, subgrupo de linfocitos T, B B-CLL	receptor CD72, señalización de TCR o BCR, interacción de linfocitos T-B
CD7		IgSF	progenitores hematopoyéticos, timocitos, T, NK	coestimulación de linfocitos T
CD8a	T8, Leu-2	IgSF	subgrupo de timocitos, subgrupo de linfocitos T, NK	correceptor de MHC de clase I, receptor para algún VIH-1 mutado, diferenciación / activación de linfocitos T
CD8b		IgSF	subgrupo de timocitos, subgrupo de linfocitos T	
CD9	p24, MRP-1	TM4SF	pre-B, eosinófilos, basófilos, plaquetas, Tact	adhesión y migración celular
CD10	CALLA, NEP, gp100	TM de tipo II	precursores de linfocitos B, precursores de linfocitos T, neutrófilos	metaloproteínasa de unión a cinc, desarrollo de linfocitos B
CD11a	LFA-1, integrina alfaL	familia integrinas	de linfa, gran, mono, mac	receptor CD11a / CD18 para ICAM-1, -2, -3, adhesión intercelular, coestimulación de linfocitos T
CD11b	Mac-1, integrina alfaM	familia integrinas	de células mieloides, NK	se une a CD54, ECM, IC3b
CD11c	p150, 95, CR4, integrina alfaX	familia integrinas	de DC, células mieloides, NK, B, subgrupo de linfocitos T	se une a CD54, fibrinógeno e iC3b
CD13	Aminopeptidasa N, APN	TM de tipo II	células mieloides	metaloproteínasa de unión a cinc, procesamiento del antígeno, receptor para las cepas de coronavirus
CD14	LPS-R	unido a GPI	mono, mac, células de Langerhans, gran bajos	receptor para LPS/LBP, reconocimiento de LPS
CD15	Lewis-x, Lex	CHO	neutrófilos, eosinófilos, mono	adhesión
CD16a	Fc gammaRIIIA	IgSF	neutrófilos, mac, NK	componente del receptor de Fc de baja afinidad, fagocitosis y ADCC
CD16b	Fc gammaRIIIB	IgSF	neutrófilos	componente del receptor de Fc de baja afinidad,

Antígeno	Otros nombres	Estructura	Distribución principal	Función
CD20	B1, Bp35	TM4SF	B, subgrupo de linfocitos T	fagocitosis y ADCC
CD21	C3DR, CR2, VEB-R	CCR5F	B, FDC, subgrupo de linfocitos T	activación de linfocitos B
CD22	BL-CAM, Siglec-2	IgSF, sialoadhesinas	B	complemento de C3d y receptor del VEB, complejo con CD19 y CD81, coreceptor de BCR
CD23	FcεpsilonRII	lectina de tipo C	B, mac activado, eosinófilos, FDC, plaquetas	adhesión, B-mono, interacciones de linfocitos B-T
CD24	BA-1	unido a GPI	timocitos, eritrocitos, linfocitos periféricos, mieloides	receptor CD19-CD21-CD81, receptor de IgE de baja afinidad, transducción de la señal
CD25	Tac, p55	TM de tipo I	Tact, Bact, precursores de linfocitos	se une a selectina P
CD31	PECAM-1	IgSF	mono, plaquetas, gran, endotelial, subgrupo de linfocitos	IL-2Ralfa, con IL-2Rbeta y gamma para formar un complejo de alta afinidad
CD33	p67, Siglec-3	IgSF, sialoadhesinas	precursores mieloides, mono, gran, DC, mastocitos, Tact	receptor CD38, adhesión
CD37		TM4SF	B, T bajo, gran bajos	adhesión
CD38	T10		niveles variables en la mayoría de células hematopoyéticas, expresión elevada en células plasmáticas, B y Tact	transducción de la señal
CD40		TNFRSF	B, mono, mac, FDC, endotelial, subgrupo de linfocitos T	ecto-ADP-ribosil ciclasa, activación celular
CD43	Leucosialina, sialoforina	Sialomucina, TM de tipo I	leucocitos, excepto los linfocitos B restantes, plaquetas bajas	receptor CD154, diferenciación / coestimulación de linfocitos B, cambio de isotipo, rescates de linfocitos B a partir de la apoptosis
CD44	H-CAM, Pgp-1	familia de las hialadherinas	células hematopoyéticas y no hematopoyéticas, excepto plaquetas, hepatocitos, testículos	inhibición de la interacción de los linfocitos T, CD54R, adhesión
CD45	LCA, T200, B220		células hematopoyéticas, isoformas múltiples procedentes de un corte y empalme alternativo	se une a ácido hialurónico, adhesión
CD45RA			B, subgrupo de linfocitos T (no expuesto anteriormente a tratamiento), mono	tirosina fosfatasa, señales de TCR y BCR potenciadas
CD45RB			subgrupo de linfocitos T, B, mono, mac, gran	isoforma del exón A de CD45
CD45RO			Tact, T con memoria, subgrupo de linfocitos B, mono, mac, gran	isoformas del exón B de CD45
CD46	MCP	CCR5F	células nucleadas	isoforma de CD45 que carece de A, B, exones C
CD47	IAP	IgSF	células hematopoyéticas, epitelial, endotelial,	proteína cofactora de la membrana, se une a C3b y C4b permitiendo la degradación por el Factor I, receptor del virus del sarampión

Antígeno	Otros nombres	Estructura	Distribución principal	Función
CD48	Blast-1	IgSF	fibroblastos, otros tejidos	adhesión celular
CD52	CAMPATH-1		amplio, todos los leucocitos	
CD53		TM4SF	timocitos, T, B (sin células plasmáticas), mono, mac	
CD55	DAF	unido a GPI	leucocitos, DC, osteoblastos, osteoclastos	transducción de la señal
CD56	NCAM	IgSF	hematopoyético, endotelial	se une a C3b, regulación del complemento
			NK, subgrupo de linfocitos T, neuronas, algunas leucemias linfocíticas granulares grandes, leucemias mieloides	adhesión
CD57	HNK-1, Leu-7		subgrupo de linfocitos NK, subgrupo de linfocitos T	
CD58	LFA-3	IgSF	hematopoyético, células	receptor de CD2, adhesión
CD59	Protectina, inhibidor de MAC	unido a GPI	hematopoyético, células	se une al complemento C8 y C9, bloquea el ensamblaje del complejo de ataque de la membrana
CD60a	GD3	CHO	subgrupo de linfocitos T, plaquetas, epitelio tímico, astrocitos	estimulación simultánea
CD63	LIMP, LAMP-3	TM4SF	plaquetas activadas, mono, mac	
CD68	Macrosialina, gp110	Sialomucina	intracelularmente en mono, mac, neutrófilos, basófilos, linfocitos grandes, mastocitos, DC, precursores mieloides, hígado	proteínas de membrana lisosómicas, se mueve a la superficie de la célula tras la activación
CD69	AIM	lectina de tipo C	Tact, B, NK y gran, timocitos, plaquetas, células de Langerhans	transducción de la señal
CD70	Ki-24	TNFSF	Bact y Tact	ligando de CD27, coestimulación de linfocitos T y linfocitos B
CD74	II, cadena invariante	B, mac, mono, células de Langerhans, DC, Tact		tráfico y función de MHC de clase II
CD79a	Iga	IgSF	B	componente de BCR, expresión superficial de BCR y transducción de la señal
CD79b	Igb	IgSF	B	componente de BCR, expresión superficial de BCR y transducción de la señal
CD81	TAPA-1	TM4SF	T, B, NK, timocitos, DC, endotelial, fibroblastos, neuroblastomas, melanomas	complejo con CD19 y CD21, señalización, coestimulación de linfocitos T
CD82	R2	TM4SF	leucocitos	transducción de la señal
CD83	HB15	IgSF	Bact y Tact, DC, células de Langerhans	
CDw84			mono, plaquetas, B, subgrupo de linfocitos T, subgrupo de mac	
CD86	B70, B7-2	IgSF	mono, DC, Bact y Tact	se une a CD28, CD152, coestimulación de linfocitos T
CD87	UPA-R	unido a GPI	gran, mono, NK, Tact, endotelial, fibroblastos	receptor del activador del plasminógeno de la

Antígeno	Otros nombres	Estructura	Distribución principal	Función
				uroquinasa, invasión de células inflamatorias, metástasis
CD90	Thy-1	IgSF, unido a GPI	subgrupo CD34+ hematopoyético, neuronas	hemocitoblastos y diferenciación de neuronas
CD94	KP43	lectina de tipo C	NK, subgrupo de linfocitos T	complejo con NKG2, inhibe la función de los linfocitos NK
CD95	Apo-1, Fas	TNFRSF	linfa (elevada tras la activación), mono, neutrófilos	receptor de FasL (CD178), apoptosis
CD96	TACTILE	IgSF	NK, Tact	adhesión de linfocitos T y NK activados
CD97		TM7SF	Bact y Tact, mono, gran	
CD98	4F2		T, B, NK, gran, todas las líneas celulares humanas	activación celular
CD99	MIC2, E2		leucocitos	activación de linfocitos T, adhesión
CD100			células hematopoyéticas excepto células inmaduras de médula ósea, RBC y plaquetas	adhesión celular, activación celular
CD103	HML-1, alfa6, integrina alfaE	familia integrinas	de linfocitos intraepiteliales, subgrupo de linfocitos, linfocitos activados	con integrina beta7, se une a E-caderina, búsqueda/retención linfática
CD107a	LAMP-1		plaquetas activadas, T, endotelial, tumores metastásicos	una proteína de membrana lisosómica
CD107b	LAMP-2		plaquetas activadas, T, endotelial, tumores metastásicos	una proteína de membrana lisosómica
CD109			Tact y plaquetas, subgrupo de CD34+, endotelial	
CD123	IL-3R	CRSF	subgrupo de linfocitos, basófilos, progenitores hematopoyéticos, mac, DC, megacariocitos	IL-3Ralfa, Con CDw131
CD146	MUC18, S-endo	IgSF	endotelial, melanomas, FDC, Tact	adhesión
CD154	CD40L, gp39, TRAP	TNFSF	Tact	ligando de CD40, coestimulación de linfocitos B y DC
CD158a	p58.1	IgSF, familia KIR	subgrupo de linfocitos NK, subgrupo de linfocitos T	inhibición de la actividad citotóxica de los linfocitos NK, receptor de NH específico de MHC de clase I
CD158b	p58.2	IgSF, familia KIR	subgrupo de linfocitos NK, subgrupo de linfocitos T	inhibición de la actividad citotóxica de los linfocitos NK, receptor de NH específico de MHC de clase I
CD163	130kD	Secuestrante del receptor SF	mono, mac	
CD164	MGC-24	epitelial, mono, de recuento de linfocitos bajo, células estromales de la médula ósea, precursores eritroides de	interacción de células estromales-células precursoras hematopoyéticas	

Antígeno	Otros nombres	Estructura	Distribución principal	Función
		CD34+		
CD168	RHAMM		mono, subgrupo de linfocitos T, subgrupo de timocitos, intracelularmente en células de cáncer de mama	adhesión, migración tumoral, metástasis
CD171	L1	IgSF	SNC, SNP, células gliales, mono, subgrupo de linfocitos T, B, DC, algunas células tumorales humanas	morfogénesis del riñón, arquitectura de los ganglios linfáticos, coestimulación de linfocitos T, neurohistogénesis, interacción homotípica, se une a CD9, CD24, CD56, CD142, CD166, integrinas
CD177	NB1		subgrupos de neutrófilos	
CD178	FasL, CD95L	TNFSF	Tact, testículos	ligando de CD95, apoptosis, privilegio inmunitario, forma soluble en suero
CD180	RP-105	LRRF, familia TLR	subgrupo de linfocitos B, mono, DC	activación de linfocitos B, señalización de LPS, Con MD-1
CD182	CXCR2, IL-8RB	familia GPCR1	neutrófilos, basófilos, NK, subgrupo de linfocitos T, mono	la unión de IL-8 induce la quimiotaxis de neutrófilos
CD185	CXCR5, BLR1	familia GPCR1	linfocitos B maduros y células de linfoma de Burkitt	con quimioquina BLC, posible función reguladora en linfomagénesis de Burkitt y/o diferenciación de linfocitos B, activación de linfocitos B maduros
CD191	CCR1, MIP-1alphaR, RANTES-R	familia GPCR1	T, mono, subgrupo de citoblastos	se une a las quimioquinas de tipo C-C y transduce la señal aumentando los niveles iónicos de calcio intracelular
CD193	CCR3, CKR3	familia GPCR1	eosinófilos, expresión menor en neutrófilos y mono, subgrupo de linfocitos T	se une a eotaxina, eotaxina-3, MCP-3, MCP-4, RANTES y MIP-1 delta, correceptor alternativo con CD4 para la infección por VIH-1
CD196	CCR6, receptor de LARC, DRY6	familia GPCR1	subgrupo de linfocitos T, B, subgrupo de DC	se une a MIP-3alpha/LARC
CD197	CCR7		subgrupo de linfocitos T, subgrupo de DC	6Cquina y receptor MIP-2beta
CD200	OX-2		timocitos, endotelial, B, Tact	inhibición de la respuesta inmunitaria
CD209	DC-SIGN		subgrupo de DC	receptor de ICAM-3, proteína de unión a VIH-1
CD227	MUC1, EMA	familia de la mucina, TM de tipo I	epitelial, subgrupo de citoblastos, FDC, mono, subgrupo de linfocitos B, algunos mielomas	adhesión, señalización, se une a CD169, CD54, y selectinas
CD231	TALLA-1, A15	TM4SF	leucemias de linfocitos T, neuroblastomas, neuronas	marcador para la leucemia linfoblástica aguda de

Antígeno	Otros nombres	Estructura	Distribución principal	Función
CD246	ALK, Ki-1		cerebrales	linfocitos T
CD254	TRANCE, RANKL, OPGL	TNFSF	leucemias de linfocitos T anaplásicas, intestino delgado, testículos, cerebro, no en linfocitos normales	desarrollo del cerebro, implicado en linfomas ALK
CD263	TRAIL-R3, DcR1, LIT		ganglio linfático y Tact de células estromales de MO	se une a OPG y RANK, diferenciación de osteoclastos, potencia las DC para estimular la proliferación de linfocitos T no expuestos anteriormente a tratamiento
CD272	BTLA	IgSF	linfocitos de sangre periférica	receptor para TRAIL, pero carece del dominio de muerte
CD273	B7DC, PD-L2, PDCD1L2	IgSF	Tact, B, permanece en Th1	receptor de HVEM, respuesta inhibidora
CD276	B7-H3	familia B7, ASV	subgrupo de DC, mono, mac	receptor de PD-1, coestimulación o supresión de la proliferación de linfocitos T
CD277	BT3.1, butirifilina SF3 A1, BTF5	familia B7, ASV	DC y mono cultivadas in vitro, Tact, tejido mamario	estimulación, activación de linfocitos T
CD279	PD1, SLEB2	familia B7/BT, ASV	T, B, NK, mono, DC, endotelial, células CD34+, líneas de células tumorales	activación de linfocitos T
CD298	subunidad beta3 de la Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa		Tact y Bact	receptores B7-H1 y B7-DC, enfermedad autoinmunitaria y tolerancia periférica
CD300a	CMRF35H, IRC1, IRp60	IgSF, ASV	amplio	transporte de iones de sodio y potasio a través de la membrana
CD300c	CMRF35A, LIR	IgSF	NK, mono, neutrófilos, subgrupo de linfocitos T y B y líneas de células linfocíticas, LMA	desconocido
CD304	BDC4, neuropilina 1	familia de semaforina	mono, neutrófilos, líneas de células monocíticas, subgrupo de linfocitos B y T	desconocido
CD305	LAIR1	IgSF, ASV	neuronas, Treg CD4+/CD25+, DC, células endoteliales y tumorales	interactúa con VEGF165 y las semaforinas, correceptor con plexina, vía guía de los axones, angiogénesis, supervivencia celular, migración
CD314	NKG2D, KLR	receptor análogo a la lectina de tipo II	NK, B, T, mono	receptor inhibidor en los linfocitos NK y T
CD317	BST2, HM1.24	Tipo II	NK, CD8 + activado, NK1.1+ T, algunas células mieloides	se une a MHC de clase I, MICA, MICB, Rae1 y ULBP4, activa la citólisis y la producción de citoquinas, estimulación simultánea
CD319	CS1, CRACC, SLAMF7	familia del receptor SLAM	B, T, NK, mono, DC, línea celular de fibroblastos, mieloma	crecimiento de linfocitos pre-B, expresados en exceso en mieloma múltiple
			linfocitos B, células dendríticas, NK, NKT	mieloma múltiple

Tabla 5: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor de colon y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
EPCAM	Molécula de adhesión a células epiteliales	2,97	13,99
IFITM1	Proteína 1 transmembrana inducida por interferón	10,55	13,06
CLDN4	Claudina-4	2,87	11,62
CDH17	Caderina-17	1,85	11,52
CEACAM1	Molécula 1 de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario	3,33	10,84
SLC26A3	Intercambiador de anión cloruro	2,57	10,59
ATP1A1	Subunidad alfa-1 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	9,28	10,51
SI	Isomaltasa	2,86	10,46
ABCB1	Proteína 1 de resistencia a multifármacos	6,09	10,24
KCNQ1	Miembro 1 de la subfamilia KQT del canal de potasio dependiente de voltaje	3,36	9,99
FCGRT	subunidad p51 grande del receptor FcRN de IgG	4,8	9,98
EPHB3	Receptor 3 de la efrina de tipo B	5,23	9,74
DSG2	Desmogleína-2	3,04	8,5
EPHB4	Receptor 4 de la efrina de tipo B	6,5	8,44
GUCY2C	Receptor de la enterotoxina estable al calor	2,23	8,05
EPHA2	Receptor 2 de la efrina de tipo A	2,8	7,95
LY6G6D	Proteína G6f del locus del complejo del antígeno 6 linfocitario	2,02	7,91
CD97	subunidad beta del antígeno de CD97	7,7	7,87
SIGMAR1	Receptor 1 intracelular sigma mo opiodeo	4,58	7,85
EREG	Epirregulina	2,93	6,9
FAIM2	Proteína salvavidas 2	2,94	6,82
PIGR	Componente secretor	4,2	6,8
SLC7A6	transportador 2 de aminoácidos Y+L	8,06	6,55
SCNN1D	subunidad delta del canal de sodio sensible a amilorida	1,77	5,74
GPR35	Receptor 35 acoplado a proteína G	1,98	5,5
ABCG2	Miembro 2 de la subfamilia G del casete de unión a ATP	1,79	5,35
LPAR4	Receptor 4 del ácido lisofosfatídico	2,93	5,05
GPR161	Receptor 161 acoplado a proteína G	2,71	4,96
CD1C	Glicoproteína CD1c de la superficie de los linfocitos T	2,73	4,89
SGCA	Alfa-sarcoglicano	2,32	4,84
CD22	Receptor CD22 de linfocitos B	4,12	4,75
CD22	Receptor CD22 de linfocitos B	3,58	4,75
CD22	Receptor CD22 de linfocitos B	2,73	4,75
CD22	Receptor CD22 de linfocitos B	2,14	4,75
SLC22A18	Miembro 18 de la familia 22 del transportador de soluto	2,32	4,62
HTR7	Receptor 7 de la 5-hidroxitriptamina	3,02	4,46
LCT	Florizin hidrolasa	2,32	4,24
CD33	Antígeno de CD33 de la superficie de células mieloides	3,42	4,14
PVR	Receptor de poliovirus	5,07	4,07
PLXDC1	Dominio de la plexina que contiene la proteína 1	5,85	3,99

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
P2RY2	Purinorreceptor 2 de P2Y	2,15	3,97
CHRNA2	Subunidad beta-2 del receptor de la acetilcolina neuronal	6,31	3,88
PTGDR	Receptor D2 de prostaglandinas	4,08	3,65
NCR1	Receptor 1 estimulador de la citotoxicidad natural	2,63	3,33
GYPA	Glicoforina-A	3,18	3,31
TNFRSF8	Miembro 8 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	2	2,75
KEL	Glicoproteína del grupo sanguíneo Kell	1,93	2,48
EDA	Ectodisplasina-A, forma secretada	2,7	2,42
ACE	Enzima convertidora de la angiotensina, forma soluble	2,39	2,19
DRD2	Receptor de la dopamina D(2)	2,49	1,97
CXCR3	Receptor de tipo 3 de la quimioquina C-X-C	4,19	1,66
MC2R	Receptores de la hormona adrenocorticotrópica	1,94	1,43

Tabla 6: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor de mama y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ABCA8	Miembro 8 de la subfamilia A del casete de unión a ATP	3,15	7,73
ABCC10	Proteína 7 asociada a resistencia a multifármacos	6,48	5,29
ABCC6	Proteína 6 asociada a resistencia a multifármacos	2,67	2,17
ACCN2	Canal 1 de iones sensibilizado a ácido	3,62	2,49
ADAM12	Proteína 12 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteínasa	4,96	7,72
ADCYAP1R1	Receptor de tipo I del polipéptido activador de la adenilato ciclasa de la pituitaria	2,17	2,88
ADRA1A	Receptor alfa-1 A adrenérgico	3,31	4,85
ADRA1B	Receptor alfa-1 B adrenérgico	1,49	1,6
ADRA1D	Receptor alfa-1 D adrenérgico	2,39	3,38
ADRA2A	Receptor alfa-2A adrenérgico	2,64	1,79
ADRB3	Receptor beta-3 adrenérgico	2,36	2,16
AGER	Receptor específico del producto final de glicosilación avanzada	2,85	2,38
AGTR2	Receptor de la angiotensina II de tipo-2	3,08	3,7
ALK	Receptor de la tirosina quinasa ALK	4,97	4,27
ANO3	Anoctamina-3	2,39	3,69
ANPEP	Aminopeptidasa N	3,26	10,78
APLNR	Receptor de la apelina	2,47	2,06
AQP2	Acuaporina-2	2,12	1,43
ATP10A	ATPasa VA transportadora del fosfolípido probable	3,96	6,02
ATP2B2	ATPasa 4 transportadora del calcio de la membrana plasmática	2,75	4,81
ATP2B3	ATPasa 3 transportadora del calcio de la membrana plasmática	3,7	4,14
ATP4A	Cadena 1 de la ATPasa alfa transportadora de potasio	1,56	11,49
ATP4B	Subunidad beta de la ATPasa transportadora de potasio	2,49	13,56

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ATP6V0A2	Isoforma 2 de la subunidad a de 116 kDa de la ATPasa de protones de tipo V	2,51	2,57
ATRN	Atractina	4,09	9,44
AVPR1A	Receptor V1a de la vasopresina	2,52	4,03
AVPR1B	Receptor V1b de la vasopresina	2,97	3,32
AVPR2	Receptor V2 de la vasopresina	2,68	2,93
BAI1	Inhibidor 1 de la angiogénesis específico de cerebro	2,73	0,33
BAI2	Inhibidor 2 de la angiogénesis específico de cerebro	2,34	4,14
BAI3	Inhibidor 3 de la angiogénesis específico de cerebro	2,73	4,76
BDKRB1	Receptor de la bradiquinina B1	2,07	3,28
BRS3	Subtipo-3 del receptor de la bombesina	2,74	4,12
BTF3	Miembro A2 de la subfamilia 3 de la butirofilina	11,29	13,02
C18orf1	Proteína 4 que contiene el dominio del receptor de clase A de la lipoproteína de baja densidad	3,18	8,45
C3AR1	Receptor quimiotáctico de la anafilatoxina C3a	3,04	5,15
C6orf105	Proteína reguladora de TFPI dependiente de andrógeno	2,34	3,84
CASR	Receptor sensibilizador del calcio extracelular	2,52	5
CCBP2	Receptor 2 de la quimioquina atípica	1,72	3,29
CCKAR	Receptor de tipo A de la colecistoquinina	2,46	3
CCKBR	Receptor de tipo B de la gastrina/colecistoquinina	2,25	5,66
CCR2	Receptor de tipo 2 de la quimioquina C-C	5,94	3,56
CCR3	Receptor de tipo 3 de la quimioquina C-C	1,89	4,17
CCR6	Receptor de tipo 2 de la quimioquina C-C	3,33	5,23
CCR8	Receptor de tipo 8 de la quimioquina C-C	2,28	3,93
CCR9	Receptor de tipo 9 de la quimioquina C-C	1,68	1,98
CD1A	Glicoproteína CD1a de la superficie de los linfocitos T	1,98	4,88
CD1B	Glicoproteína CD1b de la superficie de los linfocitos T	2,35	4,94
CD1D	Glicoproteína CD1d presentadora de antígenos	2,82	4,96
CD300C	Molécula 6 análoga a CMRF35	2,04	5,04
CD4	Glicoproteína CD4 de la superficie de los linfocitos T	2,84	6,17
CD40LG	ligando de CD40, forma soluble	2,1	3,49
CD5	Glicoproteína CD5 de la superficie de los linfocitos T	3,14	1,01
CD63	antígeno de CD63	8,6	13,18
CD84	miembro 5 de la familia SLAM	4,7	3,17
CDH15	Caderina-15	2,07	3,55
CDH19	Protocaderina-16	2,82	8,4
CDH22	Caderina-22	3	4,9
CDH8	Caderina-8	3,63	5,87
CDON	Molécula de adhesión celular relacionada/regulada por defecto por oncogenes	2,35	3,61
CHRNA4	Subunidad alfa-4 del receptor de la acetilcolina neuronal	2,14	3,33
CHRNA5	Subunidad alfa-5 del receptor de la acetilcolina neuronal	2,2	4,88

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
CHRNA6	Subunidad alfa-6 del receptor de la acetilcolina neuronal	2,26	4,93
CHRNA3	Subunidad beta-3 del receptor de la acetilcolina neuronal	1,85	3,91
CHRNAE	Subunidad épsilon del receptor de la acetilcolina	2,56	2,83
CLDN3	Claudina-3	2,91	13,56
CLDN7	Claudina-7	1,89	12,87
CLDN8	Claudina-8	2,46	10,67
CLDN9	Claudina-9	1,74	1,69
CLEC4M	Miembro M de la familia 4 del dominio de lectina de tipo C	2,7	3,32
CMKLR1	Receptor 1 análogo a quimioquina	2,62	5
CNNM2	Transportador CNNM2 de metales	2,47	5,32
CNR2	Receptor 2 cannabinoideo	2,38	3,66
CRHR1	Receptor 1 del factor liberador de corticotropina	2,15	10,71
CRHR2	Receptor 2 del factor liberador de corticotropina	2,32	6,44
CSF1	Factor 1 estimulador de colonias de macrófagos procesados	5,63	7,61
CSF1R	Receptor del factor 1 estimulador de colonias de macrófagos	2,2	4,02
CSF3R	Receptor del factor estimulador de colonias de granulocitos	1,85	2,8
CX3CL1	Fractalquina procesada	2,35	9,31
CXCR5	Receptor de tipo 5 de la quimioquina C-X-C	2,07	6,06
DAGLA	Diacylglicerol lipasa alfa específica de Sn1	2,6	2,11
DRD1	Receptor de la dopamina D(1A)	2,67	5,71
DRD3	Receptor de la dopamina D(3)	2,72	4,99
DRD4	Receptor de la dopamina D(4)	1,49	0,89
DRD5	Receptor de la dopamina D(1B)	2,26	4,91
DSC2	Desmocolina-2	2,26	11,12
DSCAM	Molécula de adhesión celular del síndrome de Down	2,54	3,76
DSG1	Desmogleína-1	2,62	7,71
EMR2	Receptor de tipo 2 de la hormona análoga a mucina que contiene un módulo análogo a EGF	2,25	3,38
EPHA5	Receptor 5 de la efrina de tipo A	2,42	7,48
EPHA7	Receptor 7 de la efrina de tipo A	2,61	4,87
ERBB3	Receptor de la proteína tirosina quinasa erbB-3	2,39	12,76
F2RL2	Receptor 3 activado por proteinasa	3,2	5,16
FAM168B	Inhibidor del recrecimiento de neuritas asociado a mielina	8,34	11,16
FAP	Seprasa	1,87	10,15
FAS	Miembro 6 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	5,68	7,24
FASLG	Dominio intracelular FasL	2,23	2,66
FCAR	Receptor Fc de la inmunoglobulina alfa	2,8	3,85
FCER1A	Subunidad alfa del receptor épsilon de inmunoglobulina de alta afinidad	2,54	4,59
FCGR2A	Receptor II-a de la región Fc de la inmunoglobulina gamma de baja afinidad	2,77	8,81

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
FCGR2B	Receptor II-b de la región Fc de la inmunoglobulina gamma de baja afinidad	2,46	5,35
FGFR2	Receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos	4,01	9,83
FGFR4	Receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblastos	2,56	7,42
FLT3LG	Ligando de la tirosina quinasa 3 relacionada con Fms	7,86	4,37
FPR1	Receptor de fMet-Leu-Phe	3,38	5,92
FPR3	Receptor 3 del péptido de N-formilo	1,91	2,61
FSHR	Receptor de la hormona estimuladora del folículo	1,89	3,78
FZD5	Frizzled-5	2,82	5,2
FZD5	Frizzled-5	1,81	5,2
FZD9	Frizzled-9	2,66	3,16
GABRA1	Subunidad alfa-1 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,2	6,26
GABRA5	Subunidad alfa-5 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,49	3,24
GABRA6	Subunidad alfa-6 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,54	2,98
GABRB1	Subunidad beta-1 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	1,89	2,37
GABRB2	Subunidad beta-2 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,26	3,89
GABRG3	Subunidad gamma-3 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,23	2,85
GABRP	Subunidad pi del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,93	12,34
GABRR1	Subunidad rho-1 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,35	3,47
GABRR2	Subunidad rho-2 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	4,16	5,43
GALR2	Receptor de tipo 2 de la galanina	1,85	0,46
GALR3	Receptor de tipo 3 de la galanina	0,68	0,48
GCGR	Receptor del glucagón	1,38	3,4
GHRHR	Receptor de la hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH)	1,61	3,49
GJA5	Proteína alfa-5 de unión a Gap	1,72	2,05
GJA8	Proteína alfa-8 de unión a Gap	2,39	6,51
GJC1	Proteína delta-3 de unión a Gap	1,94	3,89
GLP1R	Receptor del péptido 1 análogo a glucagón	5,72	3,41
GLRA1	Subunidad alfa-1 del receptor de glicina	2,15	3,87
GLRA3	Subunidad alfa-3 del receptor de glicina	3,19	3,1
GNRHR	Receptor de la hormona liberadora de gonadotropina	2,72	4,1
GPMB	Glicoproteína NMB transmembrana	2,14	13,94
GPR1	Receptor 1 acoplado a proteína G	3,83	4,1
GPR135	Receptor 135 acoplado a proteína G probable	4,15	1,91
GPR143	Receptor 143 acoplado a proteína G	1,93	3,65
GPR15	Receptor 15 acoplado a proteína G	1,81	4,41
GPR17	Receptor del nucleótido uracilo/cisteinil leucotrieno	1,93	1,74
GPR171	Receptor 171 acoplado a proteína G probable	7,73	6,32

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
GPR18	Receptor de la N-araquidonil glicina	7,05	3,52
GPR182	Receptor 182 acoplado a proteína G	1,66	1,29
GPR19	Receptor 19 acoplado a proteína G probable	1,89	5,26
GPR20	Receptor 20 acoplado a proteína G	2,02	2,53
GPR3	Receptor 3 acoplado a proteína G	3,01	5,36
GPR31	Receptor del ácido 12-(S)-hidroxi-5,8,10,14-eicosatetraenoico	1,63	1,64
GPR37L1	Receptor GPR37L1 de la prosaposina	2,23	4
GPR39	Receptor 39 acoplado a proteína G	1,81	1,36
GPR44	Receptor 2 de prostaglandinas D2	2	2,32
GPR45	Receptor 45 acoplado a proteína G probable	2,78	5,31
GPR6	Receptor 6 acoplado a proteína G	2,56	3,38
GPR65	Receptor de la psicosina	6,59	4,5
GPR68	Receptor 1 acoplado a proteína G de cáncer de ovario	2,12	1,09
GPR98	Receptor 98 acoplado a proteína G	1,89	4,7
GRIA1	Receptor 1 del glutamato	4,17	4,77
GRIA3	Receptor 3 del glutamato	2,51	6,83
GRIK2	Receptor ionotrópico del glutamato, kainato 5	2,56	4,94
GRIK3	Receptor ionotrópico del glutamato, kainato 3	2,05	3,58
GRIN1	Receptor ionotrópico del glutamato, NMDA 1	4,52	1,49
GRIN2B	Receptor ionotrópico del glutamato, NMDA 2B	2,22	3,56
GRIN2C	Receptor ionotrópico del glutamato, NMDA 2C	2,56	3,37
GRM1	Receptor 1 metabotrópico del glutamato	3,21	3,69
GRM2	Receptor 2 metabotrópico del glutamato	2,04	0,44
GRM3	Receptor 3 metabotrópico del glutamato	2,39	3,41
GRM4	Receptor 4 metabotrópico del glutamato	5,2	3,78
GRM5	Receptor 5 metabotrópico del glutamato	2,26	5,28
GRM7	Receptor 7 metabotrópico del glutamato	2,86	3,07
GYPB	Glicoforina-B	2,43	4,02
HBP1	Proteína 1 de unión a lipoproteína de alta densidad anclada en glicosilfosfatidilinositol	7,32	9,27
HCRT2	Receptor de tipo 2 de la orexina	2,32	2,42
HTR1B	Receptor 1B de la 5-hidroxitriptamina	2,82	3,51
HTR1D	Receptor 1D de la 5-hidroxitriptamina	2,29	2,33
HTR1E	Receptor 1E de la 5-hidroxitriptamina	1,72	2,4
HTR2A	Receptor 2A de la 5-hidroxitriptamina	2,1	3,67
HTR2C	Receptor 2C de la 5-hidroxitriptamina	2,49	5,18
HTR4	Receptor 4 de la 5-hidroxitriptamina	3,86	4,25
ICAM4	Molécula de adhesión intercelular 4	2,51	2,16
ICOS	Coestimulador inducible por linfocitos T	3,91	3,86
IL6R	Subunidad alfa del receptor de la interleuquina-6	4,24	3,08
IL6R	Subunidad alfa del receptor de la interleuquina-6	2,64	3,08
IL6ST	Subunidad beta del receptor de la interleuquina-6	9,43	12,67
IL9R	Receptor de interleuquina-9	2,71	2,86
ITGB3	Integrinas beta-3	4,16	3,69
KCNA3	Miembro 3 de la subfamilia A del canal de potasio dependiente de voltaje	2,09	4,9

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
KCND2	Miembro 2 de la subfamilia D del canal de potasio dependiente de voltaje	2,67	4,25
KCNH1	Miembro 1 de la subfamilia H del canal de potasio dependiente de voltaje	2,31	4,48
KCNJ4	Rectificador interno del canal de potasio 4	2,43	3,49
KCNMA1	Subunidad alfa-1 del canal de potasio activado por calcio	2,35	7,17
KCNS1	Miembro 1 de la subfamilia S del canal de potasio dependiente de voltaje	5,66	6,49
KCNV2	Miembro 2 de la subfamilia V del canal de potasio dependiente de voltaje	2,38	4,06
KIR2DL4	Receptor 2DL4 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	1,68	3,31
KIR3DL1	Receptor 3DL1 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	2,56	2,73
KIR3DL3	Receptor 3DL3 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	1,7	3,06
KLRG1	Miembro 1 de la subfamilia G del receptor análogo a lectina de los linfocitos citolíticos naturales	8,3	5,76
LAMP1	Glicoproteína 1 de membrana asociada a lisosomas	10,9	13,6
LHCGR	Receptor de la hormona coriogonadotrópica de lutropina	2,23	4,92
LNPEP	Leucil-cistinil aminopeptidasa, Forma sérica durante el embarazo	2,68	5,05
LPAR2	Receptor 2 del ácido lisofosfatídico	5,5	4,23
LRIG2	Repeticiones ricas en leucina y dominios análogos a inmunoglobulina de la proteína 2	3,35	5,48
LRRTM2	Repetición rica en leucina de la proteína 2 neuronal transmembrana	2,42	4,24
LTB4R	Receptor 1 del Leucotrieno B4	4,96	2,26
MAS1	Protooncogen Mas	1,91	3,11
MC1R	Receptor de la hormona estimuladora de melanocitos	2,94	0,96
MC5R	Receptor 5 de la melanocortina	2,28	1,63
MEP1B	Subunidad beta de la meprina A	2,61	3,87
MFSD5	Transportador del anión molibdato	1,98	4,72
MOG	glicoproteínas de oligodendrocitos de mielina	3,08	4,74
MTNR1B	Receptor de la melatonina de tipo 1B	1,61	1,67
MUC1	Subunidad beta de la mucina-1	2,73	13,68
MUSK	Proteína tirosina quinasa del receptor del músculo esquelético	2,39	4,75
NCAM2	Molécula de adhesión a células neurales 2	2,12	4,49
NCR2	Receptor 2 estimulador de la citotoxicidad natural	4,79	7,09
NCR3	Receptor 3 estimulador de la citotoxicidad natural	4,55	2,74
NIPA2	Transportador NIPA2 de magnesio	6,77	3,9
NLGN1	Neuroigina-1	2,62	7,71
NLGN4Y	Neuroigina-4, unida a Y	2,52	5,26
NMBR	Receptor de neuromedina-B	1,68	2,47
NPHS1	Nefrina	2,74	4,33
NPY2R	Receptor del neuropéptido Y de tipo 2	2,68	4,43
NPY5R	Receptor del neuropéptido Y de tipo 5	2,38	5,05

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
NTSR2	Receptor de la neurotensina de tipo 2	1,72	3
OPRD1	Receptor opioideo de tipo delta	2,26	2,14
OPRL1	Receptor de la nociceptina	2,31	1,51
OPRM1	Receptor opioideo de tipo-mu	3,18	4,01
OR10H3	Receptor olfatorio 10H3	1,63	4,02
OR1E1	Receptor olfatorio 1E1	3,04	4,77
OR2F1	Receptor olfatorio 2F1	2,64	5,73
OR2F2	Receptor olfatorio 2F2	2,19	2,3
OR2H1	Receptor olfatorio 2H1	3,39	3,82
OR2H2	Receptor olfatorio 2H2	3,79	6,37
OR2J2	Receptor olfatorio 2J2	2,41	2,16
OR2J2	Receptor olfatorio 2J2	1,93	2,16
OR511	Receptor olfatorio 511	1,85	2,8
OR7E24	Receptor olfatorio 7E24	2,5	3,47
P2RX7	Purinorreceptor 7 de P2X	2,36	2,15
PANX1	Pannexina-1	2,14	4,38
PCDHA9	Protocaderina alfa -9	2,82	3,56
PCDHB11	Protocaderina beta-11	1,91	5,23
PCDHGA8	Protocaderina gamma-A8	3,13	4,48
PLA2R1	Receptor de la fosfolipasa A2 secretora soluble	2,91	5,16
PLXNA3	Plexina-A3	2,42	3,25
POP1	Sustancia epicárdica de los vasos sanguíneos	1,74	2,59
PPYR1	Receptor del neuropéptido Y de tipo 4	2,2	2,75
PTGER1	receptor del subtipo EP1 de prostaglandina E2	1,96	0,94
PTGFR	Receptor F2-alfa de prostaglandinas	2,75	4,89
PTGIR	Receptor de la prostaciclina	2,78	2,12
PTPRJ	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo eta	2,63	4,6
PTPRR	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo R	2,47	9,99
PVRL1	Proteína 1 relacionada con el receptor de poliovirus	2,52	4,51
PVRL2	Proteína 2 relacionada con el receptor de poliovirus	3,84	10,05
ROS1	Proteína tirosina quinasa del protooncogen ROS	2,93	3,38
S1PR2	Receptor 2 de la esfingosina 1-fosfato	1,74	1,17
S1PR4	Receptor 4 de la esfingosina 1-fosfato	4	0,21
SCNN1B	subunidad beta del canal de sodio sensible a amilorida	1,89	3,16
SCNN1G	subunidad gamma del canal de sodio sensible a amilorida	2,23	2,61
SEMA4D	Semaforina-4D	10,66	1,56
SEMA6A	Semaforina-6A	4,55	7,81
SEMA6C	Semaforina-6C	5,02	3,73
SGCB	Beta-sarcoglicano	2,69	3,45
SGCB	Beta-sarcoglicano	2,04	3,45
SLC12A3	Miembro 3 de la familia 12 del transportador de soluto	2,26	3,36
SLC14A1	Transportador de urea 1	2,97	6,21
SLC14A2	Transportador de urea 2	2,85	4,4
SLC16A1	Transportador de monocarboxilato 1	3,46	8,84
SLC16A2	Transportador de monocarboxilato 8	1,77	5,17

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
SLC16A6	Transportador de monocarboxilato 7	2,41	11,66
SLC22A1	Miembro 1 de la familia 22 del transportador de soluto	2,95	11,61
SLC22A6	Miembro 6 de la familia 22 del transportador de soluto	2,26	2,53
SLC5A12	Transportador de monocarboxilato 2 acoplado a sodio	2,98	4,45
SLC6A1	Transportador GABA 1 dependiente de sodio y cloruro	2,45	4,3
SLC6A4	Transportador de serotonina dependiente de sodio	2,17	2,66
SLC6A6	Transportador de taurina dependiente de sodio y cloruro	2,54	4,13
SLC7A7	Transportador 1 de aminoácidos Y+L	2,22	9,78
SLC8A1	Intercambiador 1 de sodio/calcio	2,07	2,36
SLC9A1	Intercambiador 1 de sodio/hidrógeno	3,15	5,54
SLC9A3	Intercambiador 3 de sodio/hidrógeno	2,12	3,15
SLCO1A2	Miembro 1A2 de la familia de transportadores aniónicos orgánicos del transportador de solutos	3,87	4,98
SLCO2B1	Miembro 2B1 de la familia de transportadores aniónicos orgánicos del transportador de solutos	4,43	8,92
SORT1	Sortilina	2,93	4,6
SSTR2	Receptor de la somatostatina de tipo 2	3,08	4,47
SSTR3	Receptor de la somatostatina de tipo 3	2,23	1,5
SSTR4	Receptor de la somatostatina de tipo 4	1,83	1,53
SSTR5	Receptor de la somatostatina de tipo 5	2,57	1,47
TACR1	Receptor de la sustancia P	2,66	3,2
TACR3	Receptor de neuromedina-K	2,32	5,7
TLR6	Receptor 6 de tipo Toll	2,2	4,58
TMPRSS6	Proteína serina 6 transmembrana	4,02	3,69
TNFSF11	Miembro 11 de la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral,	2,57	5,18
TNFSF14	Miembro 14 de la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral,	3,34	2,83
	forma soluble		
TPO	Peroxidasa tiroidea	1,96	1,89
TRAT1	Adaptador 1 transmembrana asociado al receptor de linfocitos T	7,51	5,29
TRHR	Receptor de la hormona liberadora de tirotropina	2	4,18
TRPM1	Miembro 1 de la subfamilia M del canal de cationes potencial del receptor transitorio	2,43	5,22
TSHR	Receptor de tirotropina	2,9	4,87
TSHR	Receptor de tirotropina	2,12	4,87
UNC93A	Proteína A homóloga de unc-93	2,64	4,94
VIPR2	Receptor 2 del polipéptido intestinal vasoactivo	2,58	3,37
ZP2	Proteína 2 procesadora de esperma de la zona pelúcida	1,94	3,55

Tabla 7: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor digestivo y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ACVR1B	Receptor de la activina de tipo-1 B	5,16	10,48
AMIGO2	Proteína 2 inducida por anfoterina	6,73	8,2
ATP1B1	Subunidad beta-1 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	2,64	12,31
ATP8B1	ATPasa IC transportadora del fosfolípido probable	8,22	2,17
CCR7	Receptor de tipo 7 de la quimioquina C-C	10,25	11,52
CD164	Proteína 24 del núcleo de sialomucina	10,27	12,12
CD180	antígeno de CD180	2,5	6,47
CD40	Miembro 5 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	5,02	6
CD53	Antígeno CD53 de la superficie de leucocitos	10,79	11,3
CD79A	Cadena de la proteína alfa asociada a complejo del receptor del antígeno de los linfocitos B	3,74	9,17
CD79B	cadena beta de la proteína asociada a complejo de receptor de antígeno de los linfocitos B	3,6	6,66
CD8B	Cadena beta de la glicoproteína CD8 de la superficie de los linfocitos T	8,43	2,62
CELSR1	Receptor 1 de tipo G de siete pasos de la caderina EGF LAG	2,72	8,68
CLCN5	Transportador 5 intercambiador de H(+)/Cl(-)	2,71	4,97
CLDN18	Claudina-18	3,05	14,51
CLIC1	Proteína 1 del canal intracelular de cloruro	9,94	13,83
COL13A1	Cadena alfa-1 (XIII) de colágeno	2,96	6,24
DIO3	Yodotironina desyodinasas de tipo III	2,04	2,9
EDNRA	Receptor de la endotelina-1	2,9	8,96
EMR1	Receptor de tipo 1 de la hormona análoga a mucina que contiene un módulo análogo a EGF	1,83	7,29
ENPP1	Nucleótido pirofosfatasa	2,57	9,66
EPHB1	Receptor 1 de la efrina de tipo B	2,02	6,33
EPHB1	Receptor 1 de la efrina de tipo B	1,81	6,33
F2R	Receptor 1 activado por proteinasa	3,04	9,78
F2RL1	Receptor 2 activado por proteinasa, escisión alternativa en 2	3,31	9,47
FCER2	Forma soluble del receptor Fc de la inmunoglobulina épsilon de baja afinidad	2,49	8,77
GABBR1	Subunidad 1 del receptor de tipo B del ácido gamma-aminobutírico	5,1	8,52
GABRA3	Subunidad alfa-3 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,12	3,84
GPR183	Receptor 183 acoplado a proteína G	4,79	10,22
GPR37	Receptor GPR37 de la prosaposina	3,1	8,23
GPRC5A	Proteína 3 inducida por ácido retinoico	1,87	13,69
GRPR	Receptor del péptido liberador de gastrina	2,04	3,35
GYPC	Glicoforina-C	9,22	7,58
IL1R2	Receptor de tipo 2 de la interleuquina-1, forma soluble	2,82	12,83
KIAA0319	Proteína KIAA0319 asociada a dislexia	2,43	5,61
LAMP2	Glicoproteína 2 de membrana asociada a lisosomas	4,05	11,29

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
LRP8	Proteína 8 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad	4,24	8,84
LSR	Receptor de lipoproteínas estimulado por lipólisis	4,99	11,48
MICB	Secuencia B relacionada con el polipéptido MHC de clase I	5,27	9,89
MMP16	Metaloproteínasa-16 de matriz	3,19	6,18
MS4A1	Antígeno CD20 de linfocitos B	2,15	8,02
MYOF	Mioferlina	2,41	11,56
NAT1	Transportador 3 de aminoácidos neutros acoplados a sodio	3,49	12,09
NFASC	Neurofascina	3,78	8,28
NPY1R	Receptor del neuropéptido Y de tipo 1	2,32	6,93
OR2B6	Receptor olfatorio 2B6	2,78	4,24
P2RY10	Presunto purinoceptor 10 de P2Y	3,39	6,62
PCDH1	Protocaderina-1	4,45	10,07
PROM1	Prominina-1	2,52	11,77
PSEN1	Presenilina-1 CTF12	2,94	8,83
PTGER2	Receptor del subtipo EP2 de prostaglandina E2	6,33	6,74
PTGER4	Receptor del subtipo EP4 de prostaglandina E2	8,62	5,12
PTPRK	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo kappa	2,14	10,9
RET	Fragmento de 120 kDa de la caderina RET anclado a la membrana celular extracelular	2,38	12,3
SERINC3	Incorporador 3 de la serina	7,93	12,01
SIT1	Transportador XTRP3 dependiente de sodio y cloruro	5,92	4,82
SLAMF1	Molécula de señalización de la activación linfocítica	4,4	9,03
SLC29A1	Transportador 1 equilibrante de nucleósidos	2,07	6,12
SLC39A6	Transportador ZIP6 de cinc	6,69	15,23
SLC7A5	Subunidad 1 del transportador grande de aminoácidos neutros	3,79	10,98
STX4	Sintaxina-4	5,68	7,67
TGFBR3	Receptor del factor beta de crecimiento transformante de tipo 3	7,55	7,29
TGOLN2	Proteína 2 de membrana de la red integral trans-Golgi	9,59	11,3
TLR1	Receptor 1 de tipo Toll	2,34	4,57
TMED10	Proteína 10 que contiene el dominio emp24 transmembrana	9,34	12,24
TMEM97	Proteína 97 transmembrana	2,75	9,02
TNF	Factor de necrosis tumoral, forma soluble	1,63	3,18
TNFRSF17	Miembro 17 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	1,89	10,47
TNFRSF1B	Proteína 2 de unión al factor de necrosis tumoral	5,51	9,4
VDAC1	Proteína 1 del canal selectivo de aniones dependiente de voltaje	6,52	11,5

Tabla 8: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor renal y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ADORA3	Receptor A3 de la adenosina	1,89	4,56
ATP11A	ATPasa IH transportadora del fosfolípido probable	3,62	8,8
BSG	Basigina	4,77	11,34
BTN3A2	Miembro A2 de la subfamilia 3 de la butirofilina	10,86	8,19
C10orf72	Proteína 4 que contiene el dominio del conjunto V y el dominio transmembrana	2,04	6,85
CADM3	Molécula de adhesión celular 3	3,57	6,39
CD8A	Cadena alfa de la glicoproteína CD8 de la superficie de los linfocitos T	10,35	6,6
CDH16	Caderina-16	2,17	7,09
CDH4	Caderina-4	2,15	3,6
CDH5	Caderina-5	2,5	9,55
CHL1	Proteína análoga a la molécula L1 de adhesión a células neurales procesada	2,69	10,43
CHRNA1	Subunidad beta del receptor de la acetilcolina	2,12	3,6
CLIC4	Proteína 4 del canal intracelular de cloruro	3,34	13,12
CNR1	Receptor 1 cannabinoideo	2,26	5,64
CRIM1	Proteína 1 de la neurona motora rica en cisteína procesada	3,57	12,39
CSPG4	Condroitina sulfato proteoglicano 4	3,33	6,59
CYBB	Cadena pesada del citocromo b-245	2,86	8,07
EDNRB	Receptor de la endotelina B	3,04	8,97
FLT1	Receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular	2,75	8,5
FZD1	Frizzled-1	2,72	7,59
GJC2	Proteína gamma-2 de unión a Gap	2,09	2,94
GLRB	Subunidad beta del receptor de glicina	2,51	7,15
GPER	Receptor 1 del estrógeno acoplado a proteína G	2,34	8,64
GPM6A	Glicoproteína M6-a de la membrana neuronal	2,95	6,88
GPR162	Receptor 162 acoplado a proteína G probable	2,75	2,81
GPR4	Receptor 4 acoplado a proteína G	2,93	8,09
GRM8	Receptor 8 metabotrópico del glutamato	3,43	8,25
HLA-DPB1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena beta 1 de DP	9,93	13,99
HTR6	Receptor 6 de la 5-hidroxitriptamina	4,83	10,07
INSR	Subunidad beta del receptor de insulina	3,44	8,95
ITM2B	Péptido Bri23	11,16	12,19
KCNJ1	Rectificador interno del canal de potasio 1 sensible a ATP	2,5	4,17
KDR	Receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular	2,99	9,95
KL	Péptido Klotho	2,83	7,59
LAIR1	Receptor 1 análogo a inmunoglobulina asociada a leucocitos	5,64	4,25
MFAP3	Glicoproteína 3 asociada a microfibrillas	3,7	7,3
MFAP3L	Proteína de tipo 3 asociada a microfibrillas	3,44	8,7
MICA	Secuencia A relacionada con el polipéptido MHC de clase I	4,07	2,01
NCAM1	Molécula de adhesión a células neurales 1	2,45	7,31

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
NOTCH3	Dominio intracelular Notch 3	3,21	12,41
NOTCH4	Dominio intracelular Notch 4	5,89	8,84
OLR1	Receptor 1 de la lipoproteína de baja densidad oxidada, forma soluble	2,84	8,41
P2RY14	Purinorreceptor 14 de P2Y	2,63	4,63
PCDH17	Protocaderina-17	1,7	7,36
PDGFRB	Receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas	2,68	10,48
PECAM1	Molécula de adhesión a células endoteliales plaquetarias	7,7	10,85
PLXND1	Plexina-D1	5,02	11,68
PPAP2B	Lípido fosfato fosfohidrolasa 3	4,17	12,46
PTAFR	Receptor del factor de activación plaquetaria	3,01	4,81
PTGER3	Receptor del subtipo EP3 de prostaglandina E2	4,76	10,26
PTH1R	Receptor del péptido relacionado la hormona paratiroidea/hormona paratiroidea	2,35	7,31
RAMP3	Proteína 3 modificadora de la actividad del receptor	1,79	8,84
ROR2	Receptor ROR2 transmembrana de la proteína tirosina quinasa	3,2	5,98
S1PR1	Receptor 1 de la esfingosina 1-fosfato	5,17	6,51
SCARB1	Miembro 1 del receptor de clase B secuestrante	3,01	10,4
SLC13A3	Miembro 3 de la familia 13 del transportador de soluto	3,32	7,89
SLC16A4	Transportador de monocarboxilato 5	2,88	12,54
SLC17A3	Proteína 4 de transporte de fosfato dependiente de sodio	1,58	11,55
SLC28A1	cotransportador 1 de sodio/nucleósido	4,76	6,3
SLC2A5	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 5 del transportador de glucosa facilitado	2,74	8,5
SLC39A14	Transportador ZIP14 de cinc	2,66	11,63
SLC6A13	Transportador GABA 2 dependiente de sodio y cloruro	2,75	7,44
SLC7A8	Subunidad 2 del transportador grande de aminoácidos neutros	5,03	10,46
SLCO2A1	Miembro 2A1 de la familia de transportadores aniónicos orgánicos del transportador de solutos	3,46	8,06
TBXA2R	Receptor del tromboxano A2	4,01	3,64
TGFBR2	Receptor de tipo-2 de TGF-beta	10,41	10,94
THSD7A	Proteína 7A que contiene el dominio de tipo-1 de la trombospodina	3,05	8
TIE1	Receptor Tie-1 de la proteína tirosina quinasa	2,04	4,41
TNFRSF1A	Proteína 1 de unión al factor de necrosis tumoral	6,84	10,52
TNFSF12	Miembro 12 de la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral, forma secretada	4,35	4,1
VAMP5	Proteína 5 de membrana asociada a vesículas	3,49	6,18

Tabla 9: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor de hígado y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ABCB4	Proteína 3 de resistencia a multifármacos	2,02	3,7
ADAM10	Proteína 10 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteínasa	9,42	9,41
ATR	Receptor 1 de la toxina del ántrax	6,98	9,9
BST2	Antígeno 2 estromal de médula ósea	7,38	12,45
BTN3A3	Miembro A3 de la subfamilia 3 de la butirofilina	9,72	7,48
C9	Componente del complemento C9b	2,41	10,52
CHRND	Subunidad delta del receptor de la acetilcolina	2,43	4,05
CLDN14	Claudina-14	2,79	2,4
EPOR	Receptor de la eritropoyetina	4,67	10,55
ERBB2	Receptor de la proteína tirosina quinasa erbB-2	2,36	14,12
F2RL3	Receptor 4 activado por proteínasa	2,17	2,61
GJB1	Proteína beta-1 de unión a Gap	2,96	9,4
GPR126	Receptor 126 acoplado a proteína G	2,23	11,32
IL1R1	Receptor de tipo 1 de la interleuquina-1, forma soluble	2,88	12,57
ITGB1	Integrinas beta-1	8,76	13,48
NAALADL1	Proteína análoga a dipeptidasa ácida unida a alfa N-acetilada	3,03	1,46
OR7A5	Receptor olfatorio 7A5	1,51	3,83
SGCD	Delta-sarcoglicano	3,99	7,21
SIGLEC6	Lectina 6 análoga a Ig de unión a ácido siálico	3,57	3,49
SLC38A3	Transportador 3 de aminoácidos neutros acoplados a sodio	1,89	8,91
TFR2	Proteína 2 del receptor de la transferrina	2,74	10,47

Tabla 10: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor de pulmón y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ABCB6	Miembro 6 de la subfamilia B del casete de unión a ATP, mitocondrial	2,88	9,82
ABCC1	Proteína 1 asociada a resistencia a multifármacos	7,05	8,16
ACCN1	Canal 2 de iones sensibilizado a ácido	2,25	0,8
ADAM23	Proteína 23 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteínasa	2,51	4,73
ADORA1	Receptor A1 de la adenosina	4,49	8,22
ADORA2B	Receptor A2b de la adenosina	1,66	7,5
AJAP1	Proteína 1 asociada a unión adherente	1,85	6,24
APLP1	C30	2,22	6,02
AQP3	Acuaporina-3	8,38	13,88
ATP10D	ATPasa VD transportadora del fosfolípido probable	2,43	7,4
ATP1A3	Subunidad alfa-3 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	3,01	3,13
ATP1B2	Subunidad beta-2 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	3,21	3,8
ATP1B3	Subunidad beta-3 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	8,6	14,26
AXL	Receptor UFO de la proteína tirosina quinasa	2,51	9,58
BEST1	Bestrofina-1	2,49	4,44

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
BTC	Betacelulina	2,86	4,59
BTN3A1	Miembro A1 de la subfamilia 3 de la butirofilina	10,66	11,63
CALCR	Receptor de la calcitonina	2,95	8,62
CALCRL	Receptor de tipo 1 del péptido relacionado con el gen de la calcitonina	2,12	7,67
CCR1	Receptor de tipo 1 de la quimioquina C-C	2,63	9,77
CD163	CD163 soluble	2,66	8,76
CD300A	Molécula 8 análoga a CMRF35	7,96	4,23
CD300A	Molécula 8 análoga a CMRF35	2,29	4,23
CD68	Macrosialina	4,02	8,92
CD74	Cadena gamma del antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II	9,1	13,44
CD86	Activación de linfocitos T por CD86	2,93	5,04
CHRNA3	Subunidad alfa-3 del receptor de la acetilcolina neuronal	2,54	4,62
CHRNA3	Subunidad alfa-3 del receptor de la acetilcolina neuronal	2	4,62
CKAP4	Proteína 4 asociada a citoesqueleto	6,15	11,94
CLCA2	Regulador 2 del canal de cloruro activado por calcio, forma de 35 kDa	2,99	9,81
CLDN5	Claudina-5	3,66	7,73
CLSTN1	CTF1-alfa	8,26	12,51
CNIH3	Homólogo 3 de la proteína del pepinillo	2,7	6,09
COMT	Catecol O-metiltransferasa	7,78	12,13
CSPG5	Condroitina sulfato proteoglicano 5	2,84	5,69
CXCR6	Receptor de tipo 6 de la quimioquina C-X-C	3,16	3,91
CXCR7	Receptor 3 de la quimioquina atípica	2,5	8,95
DCHS1	Protocaderina-16	4,29	2,28
DSC3	Desmocolina-2	2,82	8,95
DSG3	Desmogleína-3	2,23	10,73
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico	3,8	10,92
FAT2	Protocaderina Fat 2	2,25	9,29
FCER1G	Subunidad gamma del receptor épsilon de inmunoglobulina de alta afinidad	3,13	8,96
FCGR1A	Receptor FcI de la inmunoglobulina gamma de alta afinidad	2,09	9,65
FLT4	Receptor 3 del factor de crecimiento endotelial vascular	3,19	3,36
FPR2	Receptor 2 del péptido de N-formilo	2,9	7,14
FURINA	Furina	6,42	7,5
FZD6	Frizzled-6	2,64	10,45
GABBR2	Subunidad 2 del receptor de tipo B del ácido gamma-aminobutírico	3,79	9,19
GABRB3	Subunidad beta-3 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	2,46	8,83
GABRD	Subunidad delta del receptor del ácido gamma-aminobutírico	1,72	1,67
GABRE	Subunidad épsilon del receptor del ácido gamma-aminobutírico	1,85	9,18
GIPR	Receptor polipeptídico inhibidor gástrico	3,43	5,37

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
GJA1	Proteína alfa-1 de unión a Gap	2,84	12,65
GJB3	Proteína beta-3 de unión a Gap	3,72	3,79
GJB5	Proteína beta-5 de unión a Gap	1,77	6,69
GLRA2	Subunidad alfa-2 del receptor de glicina	2,26	6,15
GPR109B	Receptor 3 del ácido hidroxicarboxílico	1,77	2,91
GPR12	Receptor 12 acoplado a proteína G	2	1,76
GPR176	Receptor 176 acoplado a proteína G probable	2,05	3,86
GPR50	Receptor relacionado con la melatonina	2,26	3,16
GRIK1	Receptor ionotrópico del glutamato, kainato 1	4,66	5,65
GRIN2D	Receptor ionotrópico del glutamato, NMDA 2D	2,17	2,32
HCRT1	Receptor de tipo 1 de la orexina	2,34	3,56
HLA-DPA1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena alfa 1 de DP	8,31	12,86
HLA-DQA1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena alfa 1 de DQ	2,35	11,44
HLA-DQB1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena beta 1 de DQ	7,4	12,71
HLA-DRA	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena alfa de DR	6,42	14,18
HLA-DRB4	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena beta 4 de DR	2,72	11,24
IGSF9B	Homólogo B de proteína de tortuga	3,92	2,81
IL1RAP	Proteína accesoria del receptor de la interleuquina-1	3,99	11,4
IL1RL1	Receptor de tipo 1 de la interleuquina-1	2,55	5,15
IL4R	Subunidad alfa del receptor de la interleuquina-4 soluble	4,15	9,56
IL7R	Subunidad alfa del receptor de la interleuquina-7	11,62	11,26
ITGA6	Cadena alfa-6 ligera de integrinas	7,99	12,76
JPH3	Junctophilin-3	2,34	2,5
KCNS3	Miembro 3 de la subfamilia S del canal de potasio dependiente de voltaje	2,45	8,91
KIT	Kit de receptores del factor de crecimiento de mastocitos/citoblastos	2,85	8,67
KITLG	Ligando de KIT soluble	2,58	7,27
LILRB3	Miembro 3 de la subfamilia B del receptor análogo a la inmunoglobulina leucocitaria	5,65	8,03
LILRB4	Miembro 4 de la subfamilia B del receptor análogo a la inmunoglobulina leucocitaria	3,12	10,44
LPAR1	Receptor 1 del ácido lisofosfatídico	4,12	5,47
LPHN3	Latrofilina-3	2,85	6,43
MMP24	Metaloproteinasas-24 de matriz procesada	5,19	5,73
MPZ	Proteína PO de mielina	2,56	3,63
MUC4	Cadena beta de mucina-4	3,04	10,34
NCKAP1L	Proteína de tipo 1 asociada a Nck	6,69	7,51
NKG7	Proteína NKG7	10,92	3,66
NOTCH2	Dominio intracelular Notch 2	6,62	6,22
NRCAM	Molécula de adhesión a células neuronales	2,78	8,16
NRG2	Neuregulina-2	3,55	9,22
NRXN1	Neurexina-1	2,56	5,33

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
NTRK2	Receptor de los factores de crecimiento BDNF/NT-3	2,56	10,7
NTSR1	Receptor de la neurotensina de tipo 1	1,74	9,74
P2RY1	Purinorreceptor 1 de P2Y	2,34	7,62
P2RY6	Purinorreceptor 6 de P2Y	4,27	5,79
PCDH8	Protocaderina-8	2,67	9,29
PCDHA3	Protocaderina alfa -3	2,14	3,54
PIK3IP1	Proteína 1 de interacción con la fosfoinositido-3-quinasa	8,68	3,47
PLXNA2	Plexina-A2	2,88	7,3
PRR4	Proteína 4 relacionada con el receptor de poliovirus procesado	3,24	8,02
PTPRE	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo épsilon	6,03	7,92
PTPRO	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo U	10,46	9,01
PTPRU	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo U	3,72	6,18
RABAC1	Proteína 1 del aceptor Rab prenilado	7,54	8,82
SCTR	Receptor de la secretina	2,2	2,48
SECTM1	Proteína 1 transmembrana y secretada	2,42	6,9
SGCE	Épsilon-sarcoglicano	2,15	9,65
SGCG	Gamma-sarcoglicano	2,56	5,74
SLC16A3	Transportador de monocarboxilato 4	5,89	12,72
SLC16A7	Transportador de monocarboxilato 2	5,39	6,97
SLC20A2	Transportador 2 de fosfato dependiente de sodio	2,51	12,69
SLC26A4	Pendrina	3,57	9,39
SLC2A1	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 1 del transportador de glucosa facilitado	5,1	5,83
SLC4A7	Cotransportador 3 de bicarbonato de sodio	4,89	8,7
SLCO3A1	Miembro 3A1 de la familia de transportadores aniónicos orgánicos del transportador de solutos	4,87	7,91
SYNE2	Nesprina-2	9,43	10,43
TACR2	Receptor de sustancia-K	2,23	6,68
TFRC	Proteína 1 del receptor de la transferrina, forma sérica	7,32	14,31
TMEFF1	Tomorregulina-1	3,22	5,05
TMPRSS11D	Cadena catalítica 11D de la serina proteasa transmembrana	2,35	8,32

Tabla 11: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor de ovario y linfocitos T;

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ACVR2B	Receptor de la activina de tipo-2B	2,1	4,26
ADAM28	Proteína 28 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteínasa	2,83	9,22
ADRA2C	Receptor alfa-2C adrenérgico	4,6	5,13
ATP2B1	ATPasa 1 transportadora del calcio de la membrana plasmática	5,3	11,49
ATP2B4	ATPasa 4 transportadora del calcio de la membrana plasmática	8,21	10,1
ATP7A	ATPasa 1 transportadora de cobre	3,91	7,31
CD200	Glicoproteína de membrana OX-2	2,83	10,51

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
CD47	Antígeno CD47 de la superficie de leucocitos	9,88	10,42
CDH12	Caderina-12	2,31	5,91
CDH18	Caderina-18	2,28	4,79
CDH2	Caderina-2	3,72	11,97
CDH6	Caderina-6	2,77	8,68
CDIPT	CDP-diacilglicerol--inositol 3-fosfatidiltransferasa	8,88	10,73
CELSR2	Receptor 2 de tipo G de siete pasos de la caderina EGF LAG	2,66	8,38
CHRNA1	Subunidad alfa del receptor de la acetilcolina	2,42	5,71
CLSTN3	Calsintena-3	3,87	4,54
CX3CR1	Receptor 1 de la quimioquina CX3C	9	11,42
DDR1	Receptor 1 que contiene el dominio de la discoidina epitelial	3,83	12,36
EPHA1	Receptor 1 de la efrina de tipo A	2,02	5,96
EPHA4	Receptor 4 de la efrina de tipo A	2,39	8,56
ERBB4	Dominio intracelular ERBB4	2,29	9,76
FGFR1	Receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos	5,42	11,4
FGFR3	Receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos	2,95	11,35
FZD2	Frizzled-2	1,91	8,06
FZD7	Frizzled-7	2,55	10,24
GJA4	Proteína alfa-4 de unión a Gap	2,04	6,7
GPR125	Receptor 125 acoplado a proteína G probable	2,35	7,88
GPR56	Fragmento del extremo C de GPR56	8,6	11,27
GPR64	Receptor 64 acoplado a proteína G	2,04	8,57
GPRC5B	Miembro B del grupo 5 de la familia C del receptor acoplado a la proteína G	1,96	10,29
GRIA2	Receptor 2 del glutamato	1,96	11,78
GRIK5	Receptor ionotrópico del glutamato, kainato 5	5,79	3,36
GRIN2A	Receptor ionotrópico del glutamato, NMDA 2A	1,68	2,96
HEG1	Homólogo 1 de la proteína HEG	4,8	10,1
HRH1	Receptor H1 de la histamina	2,31	6,26
HTR3A	Receptor 3A de la 5-hidroxitriptamina	2,1	9,35
IFITM2	Proteína 2 transmembrana inducida por interferón	10,27	11,36
IFITM3	Proteína 3 transmembrana inducida por interferón	8,55	13,48
KCNH2	Miembro 2 de la subfamilia H del canal de potasio dependiente de voltaje	2,09	5,36
KCNJ12	Rectificador interno del canal de potasio 12 sensible a ATP	2,29	2,21
L1CAM	Molécula L1 de adhesión a células neurales	2,61	8,73
LGR5	Receptor 5 acoplado a la proteína-G que contiene repeticiones ricas en leucina	2,45	12,12
LPHN1	Latrofilina-1	4,5	5,56
LPHN1	Latrofilina-1	1,63	5,56
LPHN2	Latrofilina-2	1,93	7,14
MGA	Glucoamilasa	5,15	5,65
NEO1	Neogenina	1,85	10,31

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
NPTN	Neuroplastina	8,46	13,14
NRG1	Neuregulina-1	2,61	6,53
NTRK1	Receptor del factor de crecimiento nervioso de alta afinidad	2,09	2,49
PCDH7	Protocaderina-7	2,89	8,52
PCDH9	Protocaderina-9	2,99	6,15
PDGFRA	Receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas	3,69	8,44
PDGFRA	Receptor alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas	2,26	8,44
PLXNB1	Plexina-B1	2,26	6,71
PLXNB2	Plexina-B2	3,1	10,68
PODXL	Podocalixina	2,73	11,41
PRSS8	Cadena pesada de prostasina	2,07	10,77
PTH2R	Receptor 2 de la hormona paratiroidea	1,85	8,67
PVRL3	Proteína 3 relacionada con el receptor de poliovirus	2,56	10,15
SCNN1A	Subunidad alfa del canal de sodio sensible a amilorida	5,97	10,63
SLC29A2	Transportador 2 equilibrante de nucleósidos	2,93	1,89
SSPN	Sarcospan	3,49	9,16
STAR	Receptor de la enterotoxina estable al calor	2,36	7,13
TGFA	Factor alfa de crecimiento trasformante	2,64	1,71
TMED1	Proteína 1 que contiene el dominio emp24 transmembrana	4,79	9,3
TMEM59	Proteína 59 transmembrana	8,83	12,74
TNFRSF25	Miembro 25 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	7,53	4,27
TYR03	Receptor TYR03 de la proteína tirosina quinasa	4,11	10,27
UPK2	Uroplakina-2	2,29	7,49

Tabla 12: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor páncreas y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ADAM9	Proteína 9 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteinasas	3,49	10,99
B4GALT1	Beta-1,4-galactosiltransferasa 1 procesada	7,44	8,99
BDKRB2	Receptor de la bradiquinina B2	2,52	4,44
CA9	Anhidrasa carbónica 9	3,34	11,9
CACNA1C	Subunidad alfa-1C del canal de calcio de tipo-L dependiente de voltaje	2,36	4,54
CD58	Antígeno 3 asociado a la función de los linfocitos	6,51	8,16
CDH11	Caderina-11	2,85	10,38
CDH3	Caderina-3	1,96	10,91
CFTR	Regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística	3,12	11,45
CHRNA4	Subunidad beta-4 del receptor de la acetilcolina neuronal	2,38	0,66
CLDN10	Claudina-10	2,36	11,5
CXCR4	Receptor de tipo 4 de la quimioquina C-X-C	11,74	10,98
DAG1	Beta-distroglicano	5,65	10,98

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
DDR2	Receptor 2 que contiene el dominio de la discoidina	2,34	8
DMPK	Miotonina-proteína quinasa	3,7	4,21
FAT1	Protocaderina Fat 1, forma nuclear	3,3	12,45
HTR2B	Receptor 2B de la 5-hidroxitriptamina	2,22	7,73
LDLR	Receptor de lipoproteína de baja densidad	2,93	12,14
NCKAP1	Proteína 1 asociada a Nck	3,34	11,99
PMP22	Proteína 22 de mielina periférica	2,09	10,66
PNPLA2	Proteína 2 que contiene el dominio de la fosfolipasa análogo a patatina	5,46	3,45
PNPLA2	Proteína 2 que contiene el dominio de la fosfolipasa análogo a patatina	2,35	3,45
TEK	Receptor de la angiopoietina-1	3,87	8,52
TGFBR1	Receptor de tipo-1 de TGF-beta	2,17	4,3

Tabla 13: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de células de tumor de próstata y linfocitos T

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
ACCN3	Canal 3 de iones sensibilizado a ácido	2,47	2,03
ADRB1	Receptor beta-1 adrenérgico	2,85	5,09
ADRB2	Receptor beta-2 adrenérgico	5,74	9,43
AGTR1	Receptor de la angiotensina II de tipo-1	2,81	11,62
APLP2	Proteína 2 análoga a amiloide	7,06	13,06
ATP1A2	Subunidad alfa-2 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	3,07	7,55
ATP8A1	ATPasa IA transportadora del fosfolípido probable	7,23	9,16
CADM1	Molécula de adhesión celular 1	4,42	12,28
CHRM3	Receptor M3 de la acetilcolina muscarínica	1,85	9,23
CHRNA2	Subunidad alfa-2 del receptor de la acetilcolina neuronal	2,83	5,34
CXADR	Receptor de coxsackievirus y adenovirus	3,31	12,74
DPP4	Forma soluble de la dipeptidil peptidasa 4	6,42	11,22
ECE1	Enzima 1 convertidora de la endotelina	7,14	4,7
ENPP4	Bis(5'-adenosil)-trifosfatasa ENPP4	6,57	7,49
EPHA3	Receptor 3 de la efrina de tipo A	2,84	7,85
ERG	Miembro 2 de la subfamilia H del canal de potasio dependiente de voltaje	2,72	11,3
FAM38A	Componente 1 del canal de iones mecanosensible de tipo piezo	8,4	9,57
FOLH1	Glutamato carboxipeptidasa 2	2,96	13,18
GABRA2	Subunidad alfa-2 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	3	6,42
GHR	Proteína de unión a la hormona del crecimiento	2,52	6,84
GPM6B	Glicoproteína M6-b de membrana neuronal	3,22	6,56
GPR116	Receptor 116 acoplado a proteína G probable	3,69	10,09
HBEGF	Factor de crecimiento análogo a EGF de unión a heparina	2,87	8,12
JAM3	Molécula C de adhesión a la unión	4,29	7,26
KCND3	Miembro 3 de la subfamilia D del canal de potasio dependiente de voltaje	3,09	9,77
LIFR	Receptor del factor inhibidor de la leucemia	2,71	6,8

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T	Expresión relativa en células de cáncer de colon
LRBA	Proteína de anclaje de tipo beige sensible a lipopolisacáridos	5,35	9,26
MME	Neprilisina	2,62	8,05
NOV	Plexina-A1	2,43	10,41
NRP1	Neuropilina-1	3,17	7,85
OPRK1	Receptor opioideo de tipo-kappa	2,07	4,92
PLXNB3	Plexina-B3	2,57	3,59
PPAP2A	Lípido fosfato fosfohidrolasa 1	3,6	11,55
SCAMP5	Proteína 5 de membrana asociada a transportador secretor	3,03	8,43
SLC23A2	Miembro 2 de la familia 23 del transportador de soluto	3,55	7,04
SLC2A4	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 4 del transportador de glucosa facilitado	2,67	5,96
SLC36A1	Transportador 1 de aminoácidos acoplado a protones	3,38	9,28
SLC4A4	Cotransportador 1 de bicarbonato de sodio electrogénico	3,14	11,29
STIM1	Molécula 1 de interacción estromal	3,68	6,51
TMPRSS2	Cadena catalítica 2 de la serina proteasa transmembrana	2,67	9,63
TRPV6	Miembro 6 de la subfamilia V del canal de cationes potencial del receptor transitorio	4,84	8,09
VIPR1	Receptor 1 del polipéptido intestinal vasoactivo	4,41	7,73
YIPF3	Proteína YIPF3, forma III de 36 kDa	4	4,3

Tabla 14: marcadores antigénicos expresados sobre la superficie de los linfocitos T y expresado en exceso en células de tumores fluidos (LLA, LMA, LMC, SMD, LLC, CTRL)

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
CD63	antígeno de CD63	0,83
CXCR4	Receptor de tipo 4 de la quimioquina C-X-C	0,82
IFITM2	Proteína 2 transmembrana inducida por interferón	0,82
ITM2B	Péptido Bri23	0,81
BTF3	Miembro A2 de la subfamilia 3 de la butirofilina	0,8
HLA-DRB1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, Cadena beta de DRB1-12	0,79
HLA-DRA	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena alfa de DR	0,78
IFITM3	Proteína 3 transmembrana inducida por interferón	0,78
NKG7	Proteína NKG7	0,78
FCER1G	Subunidad gamma del receptor épsilon de inmunoglobulina de alta afinidad	0,78
IFITM1	Proteína 1 transmembrana inducida por interferón	0,76
NPTN	Neuroplastina	0,76
GYPC	Glicoforina-C	0,76
GPR160	Receptor 160 acoplado a proteína G probable	0,76
HLA-DPB1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena beta 1 de DP	0,75
BRI3	CT-BRI3	0,75
SLC38A2	Transportador 2 de aminoácidos neutros acoplados a sodio	0,74
C5AR1	Receptor 1 quimiotáctico de la anafilatoxina C5a	0,74
CDIPT	CDP-diacilglicerol--inositol 3-fosfatidiltransferasa	0,73

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
TNFSF13B	Miembro 13b de la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral, forma soluble	0,73
CSF3R	Receptor del factor estimulador de colonias de granulocitos	0,73
HLA-DPA1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena alfa 1 de DP	0,71
CD164	Proteína 24 del núcleo de sialomucina	0,71
CD97	subunidad beta del antígeno de CD97	0,7
C3AR1	Receptor quimiotáctico de la anafilatoxina C3a	0,69
P2RY8	Purinorreceptor 8 de P2Y	0,68
BSG	Basigina	0,68
APLP2	Proteína 2 análoga a amiloide	0,67
TFRC	Proteína 1 del receptor de la transferrina, forma sérica	0,67
MGAM	Glucoamilasa	0,67
GYPA	Glicoforina-A	0,67
TMED10	Proteína 10 que contiene el dominio emp24 transmembrana	0,66
FCGRT	subunidad p51 grande del receptor FcRN de IgG	0,66
CKAP4	Proteína 4 asociada a citoesqueleto	0,66
DYSF	Disferlina	0,66
SPPL2A	Peptidasa del péptido de señalización análoga a 2A	0,65
LAMP2	Glicoproteína 2 de membrana asociada a lisosomas	0,65
SLC7A5	Subunidad 1 del transportador grande de aminoácidos neutros	0,65
TNFRSF1B	Proteína 2 de unión al factor de necrosis tumoral	0,64
TREM1	Receptor de estimulación expresado en células mieloides 1	0,64
GPR183	Receptor 183 acoplado a proteína G	0,63
SERINC3	Incorporador 3 de la serina	0,63
CD58	Antígeno 3 asociado a la función de los linfocitos	0,63
GYPB	Glicoforina-B	0,63
RABAC1	Proteína 1 del aceptor Rab prenilado	0,62
KCNH2	Miembro 2 de la subfamilia H del canal de potasio dependiente de voltaje	0,62
FPR1	Receptor de fMet-Leu-Phe	0,62
P2RY13	Purinorreceptor 13 de P2Y	0,62
CLEC5A	Miembro A de la familia 5 del dominio de lectina de tipo C	0,62
SLC7A7	Transportador 1 de aminoácidos Y+L	0,61
MICB	Secuencia B relacionada con el polipéptido MHC de clase I	0,61
CD300LF	Molécula 1 análoga a CMRF35	0,61
GJB6	Proteína beta-6 de unión a Gap	0,61
ATP1A1	Subunidad alfa-1 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	0,6
PTGER4	Receptor del subtipo EP4 de prostaglandina E2	0,6
CD8A	Cadena alfa de la glicoproteína CD8 de la superficie de los linfocitos T	0,6
PTGER2	Receptor del subtipo EP2 de prostaglandina E2	0,6
GPR97	Receptor 97 acoplado a proteína G probable	0,6
IMP3	Peptidasa del péptido de señalización análoga a 2A	0,59
LAMP1	Glicoproteína 1 de membrana asociada a lisosomas	0,59
LILRB3	Miembro 3 de la subfamilia B del receptor análogo a la inmunoglobulina leucocitaria	0,59
GPR109B	Receptor 3 del ácido hidroxicarboxílico	0,59
SAT2	Transportador 2 de aminoácidos neutros acoplados a sodio	0,58
GPR65	Receptor de la psicosina	0,58
AMICA1	Molécula análoga a la de adhesión a la unión	0,58

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
PAG1	Microdominios 1 enriquecidos con fosfoproteínas asociadas con glicosfingolípidos	0,58
ENPP4	Bis(5'-adenosil)-trifosfatasa ENPP4	0,57
SLC40A1	Miembro 1 de la familia 40 del transportador de soluto	0,57
OLR1	Receptor 1 de la lipoproteína de baja densidad oxidada, forma soluble	0,57
LRRC33	Regulador negativo de especies de oxígeno reactivas	0,56
IL7R	Subunidad alfa del receptor de la interleuquina-7	0,56
LAIR1	Receptor 1 análogo a inmunoglobulina asociada a leucocitos	0,56
ITM2C	CT-BRI3	0,56
GPR84	Receptor 84 acoplado a proteína G	0,56
SLC12A7	Miembro 7 de la familia 12 del transportador de soluto	0,55
PTAFR	Receptor del factor de activación plaquetaria	0,55
CD33	Antígeno de CD33 de la superficie de células mieloides	0,55
SLC22A16	Miembro 16 de la familia 22 del transportador de soluto	0,55
CCR7	Receptor de tipo 7 de la quimioquina C-C	0,54
TLR1	Receptor 1 de tipo Toll	0,54
TGOLN2	Proteína 2 de membrana de la red integral trans-Golgi	0,54
YIPF3	Proteína YIPF3, forma III de 36 kDa	0,54
BST2	Antígeno 2 estromal de médula ósea	0,54
MAGT1	Proteína 1 transportadora de magnesio	0,54
TMEM173	Proteína estimuladora de los genes del interferón	0,54
ERMAP	Proteína asociada con la membrana eritroidea	0,54
CEACAM1	Molécula 1 de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario	0,54
NIPA2	Transportador NIPA2 de magnesio	0,53
PECAM1	Molécula de adhesión a células endoteliales plaquetarias	0,53
CD1D	Glicoproteína CD1d presentadora de antígenos	0,53
TMEM59	Proteína 59 transmembrana	0,53
NCKAP1L	Proteína de tipo 1 asociada a Nck	0,53
FAS	Miembro 6 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	0,53
IL6R	Subunidad alfa del receptor de la interleuquina-6	0,53
TNFRSF1A	Proteína 1 de unión al factor de necrosis tumoral	0,53
KEL	Glicoproteína del grupo sanguíneo Kell	0,53
TMEM149	Receptor 1 de la familia análoga a IGF	0,52
SLC3A2	Cadena pesada del antígeno superficial de células 4F2	0,52
ORAI1	Proteína 1 del canal de calcio activada por la liberación del calcio	0,52
XKR8	Proteína 8 relacionada con XK, forma procesada	0,52
C9orf46	Receptor del plasminógeno (KT)	0,52
TMEM127	Proteína 127 transmembrana	0,52
SLC2A1	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 1 del transportador de glucosa facilitado	0,52
FCGR1B	Receptor FcIB de la inmunoglobulina gamma de alta afinidad	0,52
CXCR2	Receptor de tipo 2 de la quimioquina C-X-C	0,52
IL4R	Subunidad alfa del receptor de la interleuquina-4 soluble	0,51
HSD17B7	3-ceto-esteroide reductasa	0,51
SEMA4D	Semaforina-4D	0,51
ZDHHC5	Palmitoiltransferasa ZDHHC5	0,51
ADRB2	Receptor beta-2 adrenérgico	0,51
S1PR4	Receptor 4 de la esfingosina 1-fosfato	0,51

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
PILRA	Receptor alfa de tipo 2 análogo a la inmunoglobulina emparejada	0,51
LTB4R	Receptor 1 del Leucotrieno B4	0,51
SORT1	Sortilina	0,51
SLCO4C1	Miembro 4C1 de la familia de transportadores aniónicos orgánicos del transportador de solutos	0,51
ANO10	Anoctamina-10	0,51
CLSTN1	CTF1-alfa	0,5
RHBDF2	Proteína 2 romboide inactiva	0,5
CCR1	Receptor de tipo 1 de la quimioquina C-C	0,5
EPCAM	Molécula de adhesión a células epiteliales	0,5
PNPLA2	Proteína 2 que contiene el dominio de la fosfolipasa análogo a patatina	0,49
SLC12A6	Miembro 6 de la familia 12 del transportador de soluto	0,49
SLC30A1	Transportador 1 de cinc	0,49
GPR27	Receptor 27 acoplado a proteína G probable	0,49
EPOR	Receptor de la eritropoyetina	0,49
CD79A	Cadena de la proteína alfa asociada a complejo del receptor del antígeno de los linfocitos B	0,48
HLA-DQB1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena beta 1 de DQ	0,48
HBP1	Proteína 1 de unión a lipoproteína de alta densidad anclada en glicosilfosfatidilinositol	0,48
ABCA7	Miembro 7 de la subfamilia A del casete de unión a ATP	0,48
RAG1AP1	Transportador SWEET 1 de azúcar	0,48
CD47	Antígeno CD47 de la superficie de leucocitos	0,48
CXCL16	Motivo C-X-C de la quimioquina 16	0,48
SLC14A1	Transportador de urea 1	0,48
TGFBR2	Receptor de tipo-2 de TGF-beta	0,47
LRBA	Proteína de anclaje de tipo beige sensible a lipopolisacáridos	0,47
MFSD5	Transportador del anión molibdato	0,47
RELT	Miembro 19L de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	0,47
ATP2B4	ATPasa 4 transportadora del calcio de la membrana plasmática	0,47
FURINA	Furina	0,47
GAPT	Proteína GAPT	0,47
NFAM1	Molécula 1 de activación de NFAT	0,47
ATP2B1	ATPasa 1 transportadora del calcio de la membrana plasmática	0,46
SLC26A11	Transportador de aniones sulfato independientes de sodio	0,46
STX4	Sintaxina-4	0,46
NAT1	Transportador 3 de aminoácidos neutros acoplados a sodio	0,46
STIM1	Molécula 1 de interacción estromal	0,46
SLC39A4	Transportador ZIP4 de cinc	0,46
ESYT2	Sinaptotagmina-2	0,46
TM7SF3	Miembro 3 de la superfamilia 7 transmembrana	0,46
SEMA4A	Semaforina-4A	0,46
CYBB	Cadena pesada del citocromo b-245	0,46
FCAR	Receptor Fc de la inmunoglobulina alfa	0,46
GABBR1	Subunidad 1 del receptor de tipo B del ácido gamma-aminobutírico	0,45
CD53	Antígeno CD53 de la superficie de leucocitos	0,45
SIGLEC10	Lectina 10 análoga a Ig de unión a ácido siálico	0,45
S1PR1	Receptor 1 de la esfingosina 1-fosfato	0,45
BTN3A2	Miembro A2 de la subfamilia 3 de la butirofilina	0,45

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
NOTCH2	Dominio intracelular Notch 2	0,45
PIK3IP1	Proteína 1 de interacción con la fosfoinositido-3-quinasa	0,45
FAM168B	Inhibidor del crecimiento de neuritas asociado a mielina	0,45
LPAR2	Receptor 2 del ácido lisofosfatídico	0,45
ATP1B3	Subunidad beta-3 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	0,45
FLVCR1	Proteína 1 relacionada con el receptor del subgrupo C del virus de la leucemia felina	0,45
SECTM1	Proteína 1 transmembrana y secretada	0,45
SLC38A5	Transportador 5 de aminoácidos neutros acoplados a sodio	0,45
GPR18	Receptor de la N-araquidonil glicina	0,44
LMBR1L	Proteína LMBR1L	0,44
ABCC1	Proteína 1 asociada a resistencia a multifármacos	0,44
SLC22A18	Miembro 18 de la familia 22 del transportador de soluto	0,44
CSF1R	Receptor del factor 1 estimulador de colonias de macrófagos	0,44
EMR1	Receptor de tipo 1 de la hormona análoga a mucina que contiene un módulo análogo a EGF	0,44
FPR2	Receptor 2 del péptido de N-formilo	0,44
KIT	Kit de receptores del factor de crecimiento de mastocitos/citoblastos	0,44
MS4A1	Antígeno CD20 de linfocitos B	0,43
MICA	Secuencia A relacionada con el polipéptido MHC de clase I	0,43
GPR172A	Familia 52 del transportador de solutos, Transportador de la riboflavina, miembro 2	0,43
F11R	Molécula A de adhesión a la unión	0,43
ADAM10	Proteína 10 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteínasa	0,43
FAM38A	Componente 1 del canal de iones mecanosensible de tipo piezo	0,43
CD68	Macrosialina	0,43
SLC26A6	Miembro 6 de la familia 26 del transportador de soluto	0,43
MCOLN1	Mucolipina-1	0,43
SLCO3A1	Miembro 3A1 de la familia de transportadores aniónicos orgánicos del transportador de solutos	0,43
PPAP2B	Lípido fosfato fosfohidrolasa 3	0,43
ICAM4	Molécula de adhesión intercelular 4	0,43
CXCR1	Receptor de tipo 1 de la quimioquina C-X-C	0,43
CD300A	Molécula 8 análoga a CMRF35	0,43
RELL1	Proteína 1 análoga a RELT	0,43
TAPBPL	Proteína relacionada con tapasina	0,42
FCGR2C	Receptor II-c de la región Fc de la inmunoglobulina gamma de baja afinidad	0,42
SLC16A6	Transportador de monocarboxilato 7	0,42
TMED1	Proteína 1 que contiene el dominio emp24 transmembrana	0,42
CD86	Activación de linfocitos T por CD86	0,42
SLC16A3	Transportador de monocarboxilato 4	0,42
SLC2A5	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 5 del transportador de glucosa facilitado	0,42
SLC29A1	Transportador 1 equilibrante de nucleósidos	0,42
SLC16A14	Transportador de monocarboxilato 14	0,42
P2RY2	Purinorreceptor 2 de P2Y	0,42
SUCNR1	Receptor 1 del succinato	0,42
BTN3A1	Miembro A1 de la subfamilia 3 de la butirofilina	0,41

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
LAT2	Miembro 2 de la familia de enlazadores para la activación de linfocitos T	0,41
PLXND1	Plexina-D1	0,41
ECE1	Enzima 1 convertidora de la endotelina	0,41
TGFBR1	Receptor de tipo-1 de TGF-beta	0,41
CCRL2	Receptor de tipo 2 de la quimioquina C-C	0,41
TFR2	Proteína 2 del receptor de la transferrina	0,41
SLC44A1	Proteína 1 análoga al transportador de colina	0,41
ITGA6	Cadena alfa-6 ligera de integrinas	0,41
PMP22	Proteína 22 de mielina periférica	0,41
LAX1	Adaptador 1 transmembrana de linfocitos	0,4
AMIGO2	Proteína 2 inducida por anfoterina	0,4
SLC38A1	Transportador 1 de aminoácidos neutros acoplados a sodio	0,4
SLC41A1	Miembro 1 de la familia 41 del transportador de soluto	0,4
C2orf89	Metaloproteasa TIK11	0,4
ABCC10	Proteína 7 asociada a resistencia a multifármacos	0,4
CLDN15	Claudina-15	0,4
SLC39A6	Transportador ZIP6 de cinc	0,4
SLC16A5	Transportador de monocarboxilato 6	0,4
TTYH3	Homólogo 3 de la proteína tweety	0,4
ATP7A	ATPasa 1 transportadora de cobre	0,4
COMT	Catecol O-metiltransferasa	0,4
SLC17A5	Sialina	0,4
TMIGD2	Proteína 2 que contiene el dominio transmembrana y de la inmunoglobulina	0,4
CLEC7A	Miembro A de la familia 7 del dominio de lectina de tipo C	0,4
SLC31A1	Proteína 1 de captación del cobre de alta afinidad	0,4
LRRC4	Proteína 4 que contiene repeticiones ricas en leucina	0,4
P2RY10	Presunto purinoceptor 10 de P2Y	0,39
ATP10D	ATPasa VD transportadora del fosfolípido probable	0,39
BTN3A3	Miembro A3 de la subfamilia 3 de la butirofilina	0,39
LIME1	Adaptador 1 transmembrana que interactúa con Lck	0,39
TNF	Factor de necrosis tumoral, forma soluble	0,39
PAQR8	Receptor beta de la progestina de membrana	0,39
OXER1	Receptor 1 oxoeicosanoide	0,39
TRAT1	Adaptador 1 transmembrana asociado al receptor de linfocitos T	0,39
GPBAR1	Receptor 1 de los ácidos biliares acoplado a la proteína G	0,39
SLC36A1	Transportador 1 de aminoácidos acoplado a protones	0,39
PTPRE	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo épsilon	0,39
PROM1	Prominina-1	0,39
CD74	Cadena gamma del antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II	0,38
CNST	Consortina	0,38
TMEM49	Proteína 1 de membrana de vacuolas	0,38
CLIC4	Proteína 4 del canal intracelular de cloruro	0,38
NAALADL1	Proteína análoga a dipeptidasa ácida unida a alfa N-acetilada	0,38
ANTXR2	Receptor 2 de la toxina del ántrax	0,38
FGFR1	Receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos	0,38
IL1RAP	Proteína accesoria del receptor de la interleuquina-1	0,38
ATP1B2	Subunidad beta-2 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	0,38
ABCG2	Miembro 2 de la subfamilia G del casete de unión a ATP	0,38

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
CLEC12A	Miembro A de la familia 12 del dominio de lectina de tipo C	0,38
HLA-DQA1	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena alfa 1 de DQ	0,37
B4GALT1	Beta-1,4-galactosiltransferasa 1 procesada	0,37
CNNM3	Transportador CNNM3 de metales	0,37
ATP1B1	Subunidad beta-1 de la ATPasa que transporta sodio/potasio	0,37
SLC39A1	Transportador ZIP1 de cinc	0,37
ATRN	Atractina	0,37
CYSLTR1	Receptor 1 del cisteinil leucotrieno	0,37
TRPV2	Miembro 2 de la subfamilia V del canal de cationes potencial del receptor transitorio	0,37
SLC27A1	Proteína 1 transportadora de ácidos grasos de cadena larga	0,37
GPR171	Receptor 171 acoplado a proteína G probable	0,37
DAGLB	Diacylglicerol lipasa beta específica de Sn1	0,37
KCNQ1	Miembro 1 de la subfamilia KQT del canal de potasio dependiente de voltaje	0,37
FZD6	Frizzled-6	0,37
CSF2RA	Subunidad alfa del receptor del factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos	0,37
PTH2R	Receptor 2 de la hormona paratiroidea	0,37
MARCH1	Proteína E3 ubiquitina ligase MARCH1	0,36
BACE2	Beta-secretasa 2	0,36
CD5	Glicoproteína CD5 de la superficie de los linfocitos T	0,36
TMEM219	Receptor de la proteína 3 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina	0,36
XPR1	Receptor 1 de retrovirus xenotrópicos y politrópicos	0,36
CD1C	Glicoproteína CD1c de la superficie de los linfocitos T	0,36
CNNM2	Transportador CNNM2 de metales	0,36
TMEM88	Proteína 88 transmembrana	0,36
ICOS	Coestimulador inducible por linfocitos T	0,36
KLRG1	Miembro 1 de la subfamilia G del receptor análogo a lectina de los linfocitos citolíticos naturales	0,36
LRP8	Proteína 8 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad	0,36
F2R	Receptor 1 activado por proteinasa	0,36
HM13	Antígeno H13 de histocompatibilidad menor	0,36
EMR2	Receptor de tipo 2 de la hormona análoga a mucina que contiene un módulo análogo a EGF	0,36
TREML1	Proteína del transcrito 1 análogo a Trem	0,36
C17orf60	Alergina-1	0,36
GPR146	Receptor 146 acoplado a proteína G probable	0,36
SLAMF6	miembro 6 de la familia SLAM	0,35
SLC7A6	Transportador 2 de aminoácidos Y+L	0,35
RELL2	Proteína 2 análoga a RELT	0,35
LGR6	Receptor 6 acoplado a la proteína-G que contiene repeticiones ricas en leucina	0,35
PANX1	Pannexina-1	0,35
C18orf1	Proteína 4 que contiene el dominio del receptor de clase A de la lipoproteína de baja densidad	0,35
SLMAP	Proteína asociada con la membrana sarcolémica	0,35
CCR5	Receptor de tipo 5 de la quimioquina C-C	0,35
MUC1	Subunidad beta de la mucina-1	0,35
EMR3	Subunidad beta del receptor de tipo 3 de la hormona análoga a mucina que contiene un módulo análogo a EGF	0,35

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
COL23A1	Cadena alfa-1 (XXIII) de colágeno	0,35
OR2W3	Receptor olfatorio 2W3	0,35
LNPEP	Leucil-cistinil aminopeptidasa, Forma sérica durante el embarazo	0,34
PRR7	Proteína 7 rica en prolina	0,34
NOTCH1	Dominio intracelular Notch 1	0,34
RFT1	Familia 52 del transportador de solutos, Transportador de la riboflavina, miembro 1	0,34
TNFRSF25	Miembro 25 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	0,34
ANO6	Anoctamina-6	0,34
AQP3	Acuaporina-3	0,34
ADAM9	Proteína 9 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteínasa	0,34
INSR	Subunidad beta del receptor de insulina	0,34
FZD5	Frizzled-5	0,34
ERG	Miembro 2 de la subfamilia H del canal de potasio dependiente de voltaje	0,34
MME	Neprilisina	0,34
FCGR2B	Receptor II-b de la región Fc de la inmunoglobulina gamma de baja afinidad	0,33
LSR	Receptor de lipoproteínas estimulado por lipólisis	0,33
DDR1	Receptor 1 que contiene el dominio de la discoidina epitelial	0,33
CNR2	Receptor 2 cannabinoideo	0,33
ATR	Receptor 1 de la toxina del ántrax	0,33
P2RY14	Purinorreceptor 14 de P2Y	0,33
VEZT	Vezatina	0,33
ALG10B	Presunta Dol-P-Glc:Glc(2)Man(9)GlcNAc(2)-PP-Dol alfa-1,2-glicosiltransferasa	0,33
PAQR7	Receptor alfa de la progestina de membrana	0,33
FLT3LG	Ligando de la tirosina quinasa 3 relacionada con Fms	0,33
CD40LG	ligando de CD40, forma soluble	0,33
FCGR2A	Receptor II-a de la región Fc de la inmunoglobulina gamma de baja afinidad	0,33
CLDN12	Claudina-12	0,33
GP6	glucoproteína plaquetaria VI	0,33
EPHB4	Receptor 4 de la efrina de tipo B	0,33
SEMA4C	Semaforina-4C	0,33
CD300C	Molécula 6 análoga a CMRF35	0,33
PEAR1	Receptor 1 de agregación endotelial plaquetaria	0,33
FFAR2	Receptor 2 de ácidos grasos libres	0,33
SLC2A6	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 6 del transportador de glucosa facilitado	0,32
TMEM150A	Proteína transmembrana 150A	0,32
ANO8	Anoctamina-8	0,32
CD200R1	Receptor 1 de la glicoproteína CD200 superficial celular	0,32
FCER1A	Subunidad alfa del receptor épsilon de inmunoglobulina de alta afinidad	0,32
BEST1	Bestrofina-1	0,32
CLDN5	Claudina-5	0,32
SLC47A1	Proteína 1 de extrusión de toxinas y multifármacos	0,32
SLC5A10	cotransportador 5 de sodio/glucosa	0,32
CD40	Miembro 5 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	0,31
ANO9	Anoctamina-9	0,31
CLEC2D	Miembro D de la familia 2 del dominio de lectina de tipo C	0,31
VIPR1	Receptor 1 del polipéptido intestinal vasoactivo	0,31

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
SLC16A7	Transportador de monocarboxilato 2	0,31
UTS2R	Receptor de la urotensina-2	0,31
CLSTN3	Calsinténina-3	0,31
GPR35	Receptor 35 acoplado a proteína G	0,31
SYT15	Sinaptotagmina-15	0,31
FAM57A	Proteína FAM57A	0,31
CD8B	Cadena beta de la glicoproteína CD8 de la superficie de los linfocitos T	0,31
IL17RC	Receptor C de la interleuquina-17	0,31
GLDN	Gliomedina	0,31
FZD2	Frizzled-2	0,31
KCNA3	Miembro 3 de la subfamilia A del canal de potasio dependiente de voltaje	0,3
MGA	Glucoamilasa	0,3
GPR1	Receptor 1 acoplado a proteína G	0,3
IL6ST	Subunidad beta del receptor de la interleuquina-6	0,3
PCDHGB5	Protocaderina gamma-B5	0,3
OR111	Receptor olfatorio 111	0,3
PTH1R	Receptor del péptido relacionado la hormona paratiroidea/hormona paratiroidea	0,3
NLGN2	Neurologina-2	0,3
MMP24	Metaloproteinasas-24 de matriz procesada	0,3
CDH22	Caderina-22	0,3
TNFRSF8	Miembro 8 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	0,3
CHRNA2	Subunidad gamma del receptor de la acetilcolina	0,3
PSEN1	Presenilina-1 CTF12	0,3
GPR114	Receptor 114 acoplado a proteína G probable	0,3
PLXNB2	Plexina-B2	0,3
CHRNA2	Subunidad alfa-2 del receptor de la acetilcolina neuronal	0,3
GPR34	Receptor 34 acoplado a proteína G probable	0,3
LPAR6	Receptor 6 del ácido lisofosfatídico	0,3
ATP8A1	ATPasa IA transportadora del fosfolípido probable	0,3
FZD1	Frizzled-1	0,3
CCR2	Receptor de tipo 2 de la quimioquina C-C	0,3
P2RY1	Purinorreceptor 1 de P2Y	0,3
SLC16A9	Transportador de monocarboxilato 9	0,3
C20orf103	Glicoproteína 5 de membrana asociada a lisosomas	0,3
ADORA2B	Receptor A2b de la adenosina	0,3
CLEC12B	Miembro B de la familia 12 del dominio de lectina de tipo C	0,3
FCRL3	Proteína 3 análoga al receptor Fc	0,29
CD180	antígeno de CD180	0,29
TIGIT	Inmunorreceptor de linfocitos T con dominios de Ig e ITIM	0,29
PPAP2A	Lípido fosfato fosfohidrolasa 1	0,29
ATP11C	ATPasa IG transportadora del fosfolípido probable	0,29
TNFRSF17	Miembro 17 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	0,29
TNFSF12	Miembro 12 de la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral, forma secretada	0,29
TBXA2R	Receptor del tromboxano A2	0,29
OR3A3	Receptor olfatorio 3A3	0,29
GPR153	Receptor 153 acoplado a proteína G probable	0,29

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
ATP11A	ATPasa IH transportadora del fosfolípido probable	0,29
LRFN1	Proteína 1 que contiene el dominio de tipo III de la fibronectina y repeticiones ricas en leucina	0,29
OR51B2	Receptor olfatorio 51B2	0,29
KCNS1	Miembro 1 de la subfamilia S del canal de potasio dependiente de voltaje	0,29
OR12D2	Receptor olfatorio 12D2	0,29
GRM4	Receptor 4 metabotrópico del glutamato	0,29
NEO1	Neogenina	0,29
DRD5	Receptor de la dopamina D(1 B)	0,29
PLXDC1	Dominio de la plexina que contiene la proteína 1	0,29
GPR157	Receptor 157 acoplado a proteína G probable	0,29
CD300LB	Molécula 7 análoga a CMRF35	0,29
MARVELD1	Proteína 1 que contiene el dominio MARVEL	0,29
MFAP3	Glicoproteína 3 asociada a microfibrillas	0,29
CHRNA1	Subunidad beta del receptor de la acetilcolina	0,29
PVRL2	Proteína 2 relacionada con el receptor de poliovirus	0,29
F2RL1	Receptor 2 activado por proteinasa, escisión alternativa en 2	0,29
GPR124	Receptor 124 acoplado a proteína G	0,29
BACE1	Beta-secretasa 1	0,29
C6orf105	Proteína reguladora de TFPI dependiente de andrógeno	0,28
CXCR3	Receptor de tipo 3 de la quimioquina C-X-C	0,28
IGSF8	Miembro 8 de la superfamilia de la inmunoglobulina	0,28
ATP8B1	ATPasa IC transportadora del fosfolípido probable	0,28
TP53I13	Proteína 13 inducible por la proteína p53 tumoral	0,28
MC1R	Receptor de la hormona estimuladora de melanocitos	0,28
CD84	miembro 5 de la familia SLAM	0,28
CALHM1	Proteína 1 moduladora de la homeostasia del calcio	0,28
CHRNA6	Subunidad alfa-6 del receptor de la acetilcolina neuronal	0,28
CDH10	Caderina-10	0,28
SLC16A1	Transportador de monocarboxilato 1	0,28
GPRC5D	Miembro D del grupo 5 de la familia C del receptor acoplado a la proteína G	0,28
AGER	Receptor específico del producto final de glicosilación avanzada	0,28
FASLG	Dominio intracelular FasL	0,28
GPR56	Fragmento del extremo C de GPR56	0,28
SIGLEC1	Sialoadhesina	0,28
KIR2DL5A	Receptor 2DL5A análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	0,28
PLB1	Lisofosfolipasa	0,28
CD200	Glicoproteína de membrana OX-2	0,27
ADAM28	Proteína 28 que contiene el dominio de la desintegrina y la metaloproteinasas	0,27
SIT1	Transportador XTRP3 dependiente de sodio y cloruro	0,27
SLC23A2	Miembro 2 de la familia 23 del transportador de soluto	0,27
CCR10	Receptor de tipo 10 de la quimioquina C-C	0,27
PRR4	Proteína 4 relacionada con el receptor de poliovirus procesado	0,27
GJD2	Proteína delta-2 de unión a Gap	0,27
SLC2A8	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 8 del transportador de glucosa facilitado	0,27

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
CD209	antígeno de CD209	0,27
CD274	ligando 1 de la muerte celular programada 1	0,27
PROM2	Prominina-2	0,27
ATP6V0A2	Isoforma 2 de la subunidad a de 116 kDa de la ATPasa de protones de tipo V	0,27
MPZ	Proteína P0 de mielina	0,27
TNFRSF18	Miembro 18 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral	0,27
MFSD2A	Proteína 2A que contiene el dominio de la superfamilia del facilitador mayor	0,27
HEG1	Homólogo 1 de la proteína HEG	0,27
OXTR	Receptor de la oxitocina	0,27
CD99L2	Proteína 2 análoga al antígeno CD99	0,27
LILRB4	Miembro 4 de la subfamilia B del receptor análogo a la inmunoglobulina leucocitaria	0,27
SMAGP	Glicoproteína de adhesión a células pequeñas	0,27
OR51I2	Receptor olfatorio 5112	0,27
LY6G6D	Proteína G6f del locus del complejo del antígeno 6 linfocitario	0,27
KCNQ4	Miembro 4 de la subfamilia KQT del canal de potasio dependiente de voltaje	0,27
HRH2	Receptor H2 de la histamina	0,27
SLC39A2	Transportador ZIP2 de cinc	0,27
CLDN10	Claudina-10	0,27
GPM6B	Glicoproteína M6-b de membrana neuronal	0,27
STEAP4	Metalorreductasa STEAP4	0,27
APOLD1	Proteína 1 que contiene el dominio L de la apolipoproteína	0,27
S1PR3	Receptor 3 de la esfingosina 1-fosfato	0,27
SGMS2	Fosfatidilcolina:ceramida colinafosfotransferasa 2	0,27
KIR2DS5	Receptor 2DS5 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	0,27
STAR	Receptor de la enterotoxina estable al calor	0,27
NIPA1	Transportador NIPA1 de magnesio	0,26
CNNM4	Transportador CNNM4 de metales	0,26
SLAMF1	Molécula de señalización de la activación linfocítica	0,26
KIAA1919	Transportador 1 de glucosa dependiente de sodio	0,26
TLR6	Receptor 6 de tipo Toll	0,26
CRB3	Homólogo 3 de los agregados de proteínas	0,26
SLC12A9	Miembro 9 de la familia 12 del transportador de soluto	0,26
GPR68	Receptor 1 acoplado a proteína G de cáncer de ovario	0,26
OR51J1	Receptor olfatorio 51J1	0,26
TREML2	Proteína del transcrito 2 análogo a Trem	0,26
GPR176	Receptor 176 acoplado a proteína G probable	0,26
FLVCR2	Proteína 2 relacionada con el receptor del subgrupo C del virus de la leucemia felina	0,26
LPAR1	Receptor 1 del ácido lisofosfatídico	0,26
PANX2	Pannexina-2	0,26
SLC6A6	Transportador de taurina dependiente de sodio y cloruro	0,26
PROKR2	Receptor 2 de la prokineticina	0,26
CLDN9	Claudina-9	0,26
MYOF	Mioferlina	0,26
LY6G6F	Proteína G6f del locus del complejo del antígeno 6 linfocitario	0,26
ESAM	Molécula de adhesión selectiva a células endoteliales	0,26

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
NCR3	Receptor 3 estimulador de la citotoxicidad natural	0,25
HLA-DQB2	Antígeno de histocompatibilidad de HLA de clase II, cadena beta 2 de DQ	0,25
SLC4A5	Cotransportador 4 de bicarbonato de sodio electrogénico	0,25
P2RY4	Purinorreceptor 4 de P2Y	0,25
ABCB1	Proteína 1 de resistencia a multifármacos	0,25
SLC9A1	Intercambiador 1 de sodio/hidrógeno	0,25
CELSR2	Receptor 2 de tipo G de siete pasos de la caderina EGF LAG	0,25
SYT8	Sinaptotagmina-8	0,25
PCDHA9	Protocaderina alfa -9	0,25
TMEM204	Proteína 204 transmembrana	0,25
PTPRJ	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo eta	0,25
GRPR	Receptor del péptido liberador de gastrina	0,25
SEMA6B	Semaforina-6B	0,25
CLCN5	Transportador 5 intercambiador de H(+)/Cl(-)	0,25
GLRA2	Subunidad alfa-2 del receptor de glicina	0,25
PLVAP	Proteína asociada a vesícula del plasmalema	0,25
ACVR1B	Receptor de la activina de tipo-1 B	0,25
JAM3	Molécula C de adhesión a la unión	0,25
LDLRAD3	Proteína 3 que contiene el dominio del receptor de clase A de la lipoproteína de baja densidad	0,25
XG	Glicoproteína Xg	0,25
SLC2A11	Familia 2 del transportador de solutos, Miembro 11 del transportador de glucosa facilitado	0,24
PCDH9	Protocaderina-9	0,24
VAMP5	Proteína 5 de membrana asociada a vesículas	0,24
CDHR2	Miembro 2 de la familia relacionada con caderina	0,24
DRD2	Receptor de la dopamina D(2)	0,24
LRIG2	Repeticiones ricas en leucina y dominios análogos a inmunoglobulina de la proteína 2	0,24
RAMP3	Proteína 3 modificadora de la actividad del receptor	0,24
SLC39A14	Transportador ZIP14 de cinc	0,24
STRA6	Estimulado por el ácido retinoico del gen 6 de la proteína homóloga	0,24
ADRA2C	Receptor alfa-2C adrenérgico	0,24
CLDN19	Claudina-19	0,24
CX3CR1	Receptor 1 de la quimioquina CX3C	0,24
CD79B	cadena beta de la proteína asociada a complejo de receptor de antígeno de los linfocitos B	0,24
KIR2DL2	Receptor 2DL2 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	0,24
CXCR7	Receptor 3 de la quimioquina atípica	0,24
OR5L2	Receptor olfatorio 5L2	0,24
LRRC52	Proteína 52 que contiene repeticiones ricas en leucina	0,24
JPH1	Junctophilin-1	0,24
ADORA1	Receptor A1 de la adenosina	0,24
GPRC5C	Miembro C del grupo 5 de la familia C del receptor acoplado a la proteína G	0,24
RET	Fragmento de 120 kDa de la caderina RET anclado a la membrana celular extracelular	0,24
PVR	Receptor de poliovirus	0,24
ITGB3	Integrinas beta-3	0,24

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
PTGIR	Receptor de la prostaciclina	0,24
LPHN1	Latrofilina-1	0,24
OR10J1	Receptor olfatorio 10J1	0,24
MFAP3L	Proteína de tipo 3 asociada a microfibrillas	0,24
GPNMB	Glicoproteína NMB transmembrana	0,24
CELSR3	Receptor 3 de tipo G de siete pasos de la caderina EGF LAG	0,23
CCR6	Receptor de tipo 2 de la quimioquina C-C	0,23
DMPK	Miotonina-proteína quinasa	0,23
UPK3B	Uroplakina-3b	0,23
OR1D2	Receptor olfatorio 1D2	0,23
OR7D2	Receptor olfatorio 7D2	0,23
ITGB1	Integrinas beta-1	0,23
HRH3	Receptor H3 de la histamina	0,23
GRIN2C	Receptor ionotrópico del glutamato, NMDA 2C	0,23
KIR3DL1	Receptor 3DL1 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	0,23
EPHB2	Receptor 2 de la efrina de tipo B	0,23
OR2S2	Receptor olfatorio 2S2	0,23
KIR2DL4	Receptor 2DL4 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	0,23
CNNM1	Transportador CNNM1 de metales	0,23
MARVELD2	Proteína 2 que contiene el dominio MARVEL	0,23
CXCR6	Receptor de tipo 6 de la quimioquina C-X-C	0,23
NOV	Plexina-A1	0,23
ABCB6	Miembro 6 de la subfamilia B del casete de unión a ATP, mitocondrial	0,23
PVRL1	Proteína 1 relacionada con el receptor de poliovirus	0,23
SLC46A2	Homólogo tímico del cotransportador estromal	0,23
ADORA3	Receptor A3 de la adenosina	0,23
GPR125	Receptor 125 acoplado a proteína G probable	0,23
CD22	Receptor CD22 de linfocitos B	0,22
FZD3	Frizzled-3	0,22
LPAR5	Receptor 5 del ácido lisofosfatídico	0,22
TMEM8B	Proteína transmembrana 8B	0,22
PLXNA1	Plexina-A1	0,22
NPFFR1	Receptor 1 del neuropéptido FF	0,22
SEZ6L2	Proteína 2 del tipo de convulsión 6	0,22
LRRTM2	Repetición rica en leucina de la proteína 2 neuronal transmembrana	0,22
SLC16A11	Transportador de monocarboxilato 11	0,22
GRIK5	Receptor ionotrópico del glutamato, kainato 5	0,22
SYT6	Sinaptotagmina-6	0,22
TMEM102	Proteína 102 transmembrana	0,22
OR8B8	Receptor olfatorio 8B8	0,22
GJB1	Proteína beta-1 de unión a Gap	0,22
GRM6	Receptor 6 metabotrópico del glutamato	0,22
C20orf54	Familia 52 del transportador de solutos, Transportador de la riboflavina, miembro 3	0,22
OR52D1	Receptor olfatorio 52D1	0,22
SLC46A1	Transportador de folato acoplado a protones	0,22
DSC2	Desmocolina-2	0,22

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
FAT1	Protocaderina Fat 1, forma nuclear	0,22
GCGR	Receptor del glucagón	0,22
POP1	Sustancia epicárdica de los vasos sanguíneos	0,22
CXADR	Receptor de coxsackievirus y adenovirus	0,22
ABCC6	Proteína 6 asociada a resistencia a multifármacos	0,22
GJA1	Proteína alfa-1 de unión a Gap	0,22
CXCR5	Receptor de tipo 5 de la quimioquina C-X-C	0,21
ABCB4	Proteína 3 de resistencia a multifármacos	0,21
CTLA4	Proteína 4 de linfocitos T citotóxicos	0,21
TRPV1	Miembro 1 de la subfamilia V del canal de cationes potencial del receptor transitorio	0,21
MRGPRX4	Miembro X4 del receptor acoplado a la proteína G relacionada con Mas	0,21
SIGLEC6	Lectina 6 análoga a Ig de unión a ácido siálico	0,21
IL9R	Receptor de interleuquina-9	0,21
CHRN2	Subunidad beta-2 del receptor de la acetilcolina neuronal	0,21
PDGFRB	Receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas	0,21
TMPRSS11D	Cadena catalítica 11D de la serina proteasa transmembrana	0,21
CDH24	Caderina-24	0,21
PRRT2	Proteína 2 transmembrana rica en prolina	0,21
GALR3	Receptor de tipo 3 de la galanina	0,21
OR51I1	Receptor olfatorio 5111	0,21
PTPRU	Receptor de la proteína tirosina fosfatasa de tipo U	0,21
LPAR4	Receptor 4 del ácido lisofosfatídico	0,21
ZNRF3	Proteína E3 ubiquitina ligase ZNRF3	0,21
P2RY6	Purinorreceptor 6 de P2Y	0,21
AGTR1	Receptor de la angiotensina II de tipo-1	0,21
GPR182	Receptor 182 acoplado a proteína G	0,21
PODXL	Podocalixina	0,21
BDKRB1	Receptor de la bradiquinina B1	0,21
DCHS1	Protocaderina-16	0,21
GRIN3B	Receptor ionotrópico del glutamato, NMDA 3B	0,21
PTGDR	Receptor D2 de prostaglandinas	0,21
PVRL4	Proteína 4 relacionada con el receptor de poliovirus procesado	0,21
GPR77	Receptor 2 quimiotáctico de la anafilatoxina C5a	0,21
PARM1	Proteína 1 análoga a mucina regulada por el andrógeno de próstata	0,21
OR10H1	Receptor olfatorio 10H1	0,21
OR10D3	Presunto receptor olfatorio 10D3	0,21
TNFSF14	Miembro 14 de la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral, forma soluble	0,21
FCRL5	Proteína 5 análoga al receptor Fc	0,2
RNF43	Proteína E3 ubiquitina ligase RNF43	0,2
AMIGO1	Proteína 1 inducida por anfoterina	0,2
OR1F1	Receptor olfatorio 1F1	0,2
SLCO4A1	Miembro 4A1 de la familia de transportadores aniónicos orgánicos del transportador de solutos	0,2
TTYH2	Homólogo 2 de la proteína tweety	0,2
GABRR2	Subunidad rho-2 del receptor del ácido gamma-aminobutírico	0,2
GJD3	Proteína delta-3 de unión a Gap	0,2
GRID1	Receptor ionotrópico del glutamato, delta-1	0,2

Antígeno	Nombre de la proteína	Expresión relativa en linfocitos T
CLDN1	Claudina-1	0,2
SLC6A13	Transportador GABA 2 dependiente de sodio y cloruro	0,2
SLC30A8	Transportador 8 de cinc	0,2
KIR2DL3	Receptor 2DL3 análogo a inmunoglobulina de los linfocitos citolíticos naturales	0,2
GPR78	Receptor 78 acoplado a proteína G	0,2
UPK2	Uroplakina-2	0,2
CLDN14	Claudina-14	0,2
EDA	Ectodisplasina-A, forma secretada	0,2
PTGER1	Receptor del subtipo EP1 de prostaglandina E2	0,2
TRPV5	Miembro 5 de la subfamilia V del canal de cationes potencial del receptor transitorio	0,2
PRIMA1	Anclaje de membrana 1 rico en prolina	0,2
GJA9	Proteína alfa-9 de unión a Gap	0,2
SLC7A3	Transportador 3 de aminoácidos catiónicos	0,2
SSTR2	Receptor de la somatostatina de tipo 2	0,2
CD1A	Glicoproteína CD1a de la superficie de los linfocitos T	0,2
SLC7A8	Subunidad 2 del transportador grande de aminoácidos neutros	0,2
CLIC6	Proteína 6 del canal intracelular de cloruro	0,2
EPHA8	Receptor 8 de la efrina de tipo A	0,2
SLC20A2	Transportador 2 de fosfato dependiente de sodio	0,2
SCNN1A	Subunidad alfa del canal de sodio sensible a amilorida	0,2
OR51B6	Receptor olfatorio 51B6	0,2
OR14J1	Receptor olfatorio 14J1	0,2
OR10C1	Receptor olfatorio 10C1	0,2
OPRL1	Receptor de la nociceptina	0,2
CCR9	Receptor de tipo 9 de la quimioquina C-C	0,2
JPH4	Junctophilin-4	0,2
HTR1E	Receptor 1E de la 5-hidroxitriptamina	0,2
MC3R	Receptor 3 de la melanocortina	0,2
CD163L1	Secuestrante del receptor de la proteína M160 de tipo 1 rica en cisteína	0,2
SEZ6	Homólogo de la proteína 6 de las convulsiones	0,2
PRSS8	Cadena pesada de prostasina	0,2
CDH26	Proteína 26 análoga a caderina	0,2
ODZ1	Péptido asociado al extremo C de la teneurina	0,2
FGFR3	Receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos	0,2

Ejemplo 1 INACTIVACIÓN GÉNICA (KO) EN EL GEN CD38 Y EXPRESIÓN DE CAR DIRIGIDO CONTRA CD38

Presentación de la ADP ribosa hidrolasa cíclica diana de CD38

5

CD38 es una glicoproteína que se encuentra en la superficie de muchas células inmunitarias, incluyendo células de mieloma múltiple (MM) que expresan un alto nivel de CD38 en una gran mayoría de pacientes. CD38 es una diana validada para las MM dado que muchos estudios han mostrado la destrucción eficaz de las células CD38+ MM procedentes de pacientes y las líneas de células CD38+ MM utilizando mAb dirigidos contra CD38 por CDC y ADCC (Ellis, J. H. K. et al, Journal of Immunology, 1995, 155 (2), 925-937). Daratumumab es un anticuerpo monoclonal CD38 humano terapéutico que induce la destrucción del mieloma múltiple y otros tumores hematológicos (De Weers, M. y col., *J Immunol* 2011 186:1840-1848). En algunos estudios, Se ha mostrado que CD38 se expresa también mucho por los linfocitos T activados (Sandoval-Montes CJ et al., 2005, *Leukoc Biol.* 77(4):513-21).

10

15 Expresión de CD38 por los linfocitos T

Se analizó la expresión de CD38 por los linfocitos T tras la utilización de perlas de CD3/CD28 y la estimulación de IL-

2 mediante FACS cada 3-4 días durante 17 días. Se observó que más del 90% de linfocitos T se expresan entre el día 6 y el día 17 después de la activación (Figura 10B).

- 5 Por lo tanto, a fin de evitar la destrucción de los linfocitos T activados por CAR+ dirigido contra CD38 necesita evitarse la expresión superficial de los linfocitos T CD38 en los linfocitos T. Esto puede llevarse a cabo mediante la inactivación del gen CD38 utilizando nucleasas TALE. TALEN es una marca comercial propia del solicitante (Collectis, 8 rue de la Croix Jarry, 75013 PARÍS) que designa un formato personalizado de nucleasas TAL.

10 Estrategia para la inactivación génica (KO) de CD38

Se diseñaron y produjeron nucleasas TALE heterodiméricas que se dirigían a dos secuencias de 17 pb de longitud separadas por un separador de 13 pb en el gen CD38. Cada semidiana se reconoció por las repeticiones de las nucleasas semi TALE relacionadas en la Tabla 15 siguiente y en la Figura 10A.

- 15 La secuencia de repeticiones para la TALEN de la izquierda para la diana CD38ex1_T2 era NN-NI-NN-NN-NG-NN-NN-NN-NG-NG-NN-NN-HD-NN-NI-NG, y la de la TALEN de la derecha era NN-NG-HD-HD-HD-HD-NN-HD-NI-NN-NG-NN-HD-HD-HD-NG.

Tabla 15: Secuencias de las dianas de CD38 y TALEN ensayadas para la inactivación del antígeno CD38

Nombre	TALEN L/R	SEQ ID n.º	Secuencia de ácido nucleico o secuencia polipeptídica
Diana de CD38	N/A	1	TGAGGTGGGTGGCGAC taaggcgaccgg TGGGCACTGCGGGGACA
CD38ex1_T2-L1 TALEN	L	2	MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYQQQEQEKIKPKVRSTV AQHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHE AIVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARGGVTA VEAVHAWRNALTGAPLNLTTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL CQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAI ASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALET VQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHG LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNN GGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLL PVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQ QVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGK QALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL CQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVV AIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALET VQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGGRPALESIVAQLSRPDPALAA LTNDHLVALACLGGRPALDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEEKSELRHK LKYVPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKP DGAITYVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRN KHINPNEWVKVYPSSVTEFKFLFVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNG AVLSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRRKFNNGEINFAAD

Nombre	TALEN L/R	SEQ ID n.º	Secuencia de ácido nucleico o secuencia polipeptídica
CD38ex1_T2-R1 TALEN	R	3	MGDPKKKKRVIDKETAAAKFERQHMSIDIADLRTLGYSSQQQKEIKP KVRSTVAQHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTVAVKYQDMIAAL PEATHEAIVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKI RGGVTAVEAVHAWRNALTGAPLNLTQQVVAIASNNGGKQALETV QRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDG GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLP VLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQV VAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQAL ETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAH GLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN GGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQR LLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPE QVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGGRPALESIVAQLSRPDP ALAAALTNDHLVALACLGGRPALDAVKKGLGDPISRSQVLKSELEKKSE LRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGG SRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQ TRNKHINPNEWVKVPSSVTEFKFLFVSGHFKNYKAQLTRLNHITNC NGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRRKFNNGEINFAAD

Cada construcción de nucleasa TALE se subclonó utilizando la digestión con la enzima de restricción en un vector de expresión de mamíferos bajo el control del promotor T7. Se sintetizaron los ARNm que codificaban la nucleasa TALE escindiendo CD38 a partir de plásmidos que transportaban la secuencia de codificación en la dirección 3' del promotor T7.

Los linfocitos T purificados se activaron durante 72 horas con perlas revestidas con anti CD3/CD28 y se transfectó IL-2 recombinante mediante electroporación (Cytopulse) con cada uno de los 2 ARNm (10 µg cada uno) que codifican la mitad de las nucleasas CD38ex1_T2 TALE. Para investigar, las líneas de células CD38 KO, se evaluó el porcentaje de linfocitos T negativos para CD38 mediante citometría en el día 3, 6, 10 y 13 días después la transfección de ARNm de TALEN. Se observó que el 15% de los linfocitos T transfectados eran deficientes para CD38 (Figura 10 C) y esta deficiencia fue estable durante 13 días después de la transfección.

Además, se han diseñado dos nucleasas TALE alternativas que se dirigen al gen CD38. Cada semidiana se reconoció por las repeticiones de las nucleasas semi TALE relacionadas en la Tabla 16 siguiente y en la Figura 10A. La secuencia de repeticiones para la TALEN de la izquierda para la diana CD38ex1_T4 era NG-NN-HD-NN-NI-NN-NG-NG-HD-NI-NN-HD-HD-HD-NN-NN-NG, y la de la TALEN de la derecha era NG-NN-HD-NG-NN-HD-HD-NN-NN-HD-NG-HD-NG-HD-NG-NI. La secuencia de repeticiones para la TALEN de la izquierda para la diana CD38ex1_T5 era NG-NN-NI-NG-HD-HD-NG-HD-NN-NG-HD-NN-NG-NN-NN-NG, y la de la TALEN de la derecha era HD-NN-NI-NN-NN-NG-NN-NN-HD-NN-HD-HD-HD-NI-NN-HD-NI.

Tabla 16: Secuencias de las dos dianas diferentes de CD38 y de las TALEN correspondientes para su inactivación

Nombre	TALEN L/R	SEQ ID n.º	Secuencia de ácido nucleico o secuencia de repeticiones
Diana de CD38ex1_T4	N/A	4	TGCGAGTTCAGCCCGGtggtccggggacaaacctGCTGCCGGCTCTCTA
CD38ex1_T4-L TALEN	L	5	MGDPKKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQKEIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTTHAHIVALSQHHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEA IVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPQLDGTQLLKIAGRGGVTAV EAVHAWRNALTGAPLNLTQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCO AHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQALLPVLCOAHGLTPQQVVAI SHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQ RLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNIGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTP QQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGK QALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL COAHGLTPQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAI ASNIGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETV QRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASHDG GKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQALLPV LCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVV AIASNNGGGRPALESIVAQLSRPDPALAALTNDHLVALACLGGRPALDAV KKGLGDPISRSQLVKSELEKKSELRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRIL EMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYS GGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWWKVYPSSVTEFKFLF VSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEV RRKFNNGEINFAAD
CD38ex1_T4-R TALEN	R	6	MGDPKKKKRKVIDKETAAAKFERQHMSIDIADLRTLGYSSQQQKEIKP KVRSTVAQHHEALVGHGFTTHAHIVALSQHHPAALGTAVVKYQDMIAAL PEATHEAIVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPQLDGTQLLKIAGR GGVTAVEAVHAWRNALTGAPLNLTQQVVAIASNNGGKQALETVQ RLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTP EQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNNGGK QALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL COAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAI ASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETV QRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQALLPVLCOAHGLT PQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGG KQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL COAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAI ASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETV QRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNIGGGRPALESIVAQLSRPDPALAALT NDHLVALACLGGRPALDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEKKSELRHKLK YPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDG AIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKH INPNEWWKVYPSSVTEFKFLFVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLS VEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRRKFNNGEINFAAD
Diana de CD38ex1_T5	N/A	7	TGATCCTCGTCGTGGTgctcgcggtggtcgctccGAGGTGGCGCCAGCA

Nombre	TALEN L/R	SEQ ID n.º	Secuencia de ácido nucleico o secuencia de repeticiones
CD38ex1_T5-L TALEN	L	8	MGDPKKRKRVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQKEIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEA IVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIAGRGGVTAV EAVHAWRNALTGAPLNLTQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIA SNIGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQ RLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTP QQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGK QALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAI ASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASHDGGKQALETV QRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGL TPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNG GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQALLPV LCQAHGLTPQQVVAIASNNGGRPAPLESIVAQLSRPDPALAALTNDHLV ALACLGGRPALDAVKKGLGDPISRSQVLKSELEKKSELRHKLKYPHEY IELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVG SPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEW WKVYPSSVTEFKFLFVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLI GGEMIKAGTLTLEEVRKFNNGEINFAAD
CD38ex1_T5-R TALEN	R	9	MGDPKKRKRVIDKETAAAKFERQHMSIDIADLRTLGYSSQQQKEIKIP KVRSTVAQHHEALVGHGFTAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAAL PEATHEAIVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIAG RGGVTAVEAVHAWRNALTGAPLNLTQQVVAIASHDGGKQALETVQ RLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTP EQVVAIASNIGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIAS NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQR LLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQ QVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASHDGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQR LLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNIGGRPAPLESIVAQLSRPDPALAALTND HLVALACLGGRPALDAVKKGLGDPISRSQVLKSELEKKSELRHKLKYP HEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIY TVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPN EWWKVYPSSVTEFKFLFVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEE LLIGGEMIKAGTLTLEEVRKFNNGEINFAAD

Estrategia para la expresión del CAR dirigido contra CD38

Estructura y composición de los CAR dirigidos contra CD38

5

En la Tabla 17 se presentan la cadena VH y VL del scFv dirigido contra CD38. La SEQ ID NO:10-11 corresponde al anticuerpo humanizado dirigido contra CD38 daratumumab (Genmab) y la SEQ ID NO: 12-13 al MOR202 (o MOR03087) tal como se describe en la patente US 8.263.746B.

10

La SEQ ID NO:14-20 y la SEQ ID NO:21-26 corresponden a la secuencia de CDR para respectivamente la cadena VH (HCDR) y la cadena VL (LCDR) tal como se describe en la solicitud WO 2008/047242.

Tabla 17: Secuencias de las cadenas VH y VL de los anticuerpos scFv dirigidos contra CD38 daratumumab, MOR202 y de las CDR específicas para las cadenas VH y VL.

Nombre	Cadena VH o VL	SEQ ID n.º	Polipéptido o secuencia de ácido nucleico
Daratumumab	VH	10	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFTFNSFAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGSGGGTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYFCAKDILWFGEVPFDYWGGQTLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSFLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
	VL	11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQ RSNWPPTFGGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
MOR202 (MOR03087)	VH	12	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPG KGLEWVSGISGDPSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAWVGQGLTVTVSS
	VL	13	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYVYQQKPGQAP VLVIYGDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQ TYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ
HCDR1-1	VH	14	GFTFSSYYMN
HCDR1-2	VH	15	SYMMN
HCDR2	VH	16	GISGDPSTYYADSVKG
HCDR3	VH	17	DLPLVYTGFAV
HCDR4	VH	18	DYWMQ
HCDR5	VH	19	TIYPGDGDTGYAQKFK
HCDR6	VH	20	GDYYGSNSLDY
LCDR1	VL	21	SGDNLRHYYVY
LCDR2	VL	22	GDSKRPS
LCDR3	VL	23	QTYTGGASL
LCDR4	VL	24	KASQDVSTVVA
LCDR5	VL	25	SASYRYI
LCDR6	VL	26	QQHSPPYT

Para el scFv daratumumab se han diseñado tres diferentes construcciones CAR (GMB005-V1 y V2 y V3) tales como las presentadas en la Figura 11A y se presenta su secuencia en la Tabla 18 siguiente. Las tres construcciones comparten los mismos componentes, en términos de péptidos de señalización (CD8 α), enlazador GS (entre las cadenas VH y VL de scFv), dominio transmembrana (TM), dominio 4-1BB coestimulador, y dominio de activación CD3 ζ (secuencias presentadas en la Tabla 18). Sus diferencias proceden de la elección de la bisagra (Tabla 18):

V1: bisagra de FcRIIa

- V2: bisagra de CD8a

- V3: bisagra de IgG1

Tabla 18: Secuencia polipeptídica de 3 estructuras diferentes de los CAR dirigidos contra CD38 basados en el scFv daratumumab y de los componentes individuales utilizados

Nombre del CAR	SEQ ID n.º	
CD8α-Péptido de señalización (PS)	27	MALPVTALLPLALLLHAARP
enlazador GS	28	GGGSGGGSGGGGS
bisagra de FCRIIα	29	GLAVSTISSFFPPGYQ
bisagra de CD8α	30	TTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
bisagra de IgG1	31	EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
dominio TM	32	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
dominio 4-1 BB coestimulador	33	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
Dominio de activación CD3ζ	34	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
GMB005-V1 CAR	35	PLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGPEVFDYWGGTLTVSSASGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASN RATGIPARFSGSGGTDFLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKEIKGLAVSTISSFFPPGYQIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA
GMB005-V2 CAR	36	PLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGPEVFDYWGGTLTVSSASGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASN RATGIPARFSGSGGTDFLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKEIKTTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA
GMB005-V3 CAR	37	PLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGPEVFDYWGGTLTVSSASGGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASN RATGIPARFSGSGGTDFLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKEIKEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA

Cribados

Se transfectaron TALEN de CD38 en el día 4 después de la activación. 3 días después, las células deficientes en CD38 se clasificaron mediante selección negativa y se transfectaron 3 días después con los ARNm de los CAR dirigidos contra CD38. Las moléculas CAR generadas se cribarán a continuación para la actividad de expresión y desgranulación hacia la expresión de CDR38 de las líneas de células diana tras la transfección transitoria del ARNm de CAR. Las líneas de células diana que expresan diferentes niveles de expresión de CD38 (Figura 11B) se usarán para el ensayo de actividad:

- U266 CD38+ y U266 CD38- obtenidas mediante separación magnética utilizando microperlas dirigidas contra CD38
- L363, una línea de células de mieloma múltiple que expresan niveles intermedios de CD38
- Daudi, una línea de células derivada de linfoma de Burkitt que expresa niveles altos de CD38
- K562, una línea de células negativa para CD38 derivada de leucemia mieloide crónica.

Al primer cribado seguirá una segunda etapa de cribado en la que se ensayarán numerosos candidatos seleccionados para su capacidad de inducir la desgranulación, liberación de IFN γ y actividad citotóxica específica hacia las líneas de células diana seleccionadas. A continuación se reducirá la selección de candidatos y se evaluarán algunos candidatos seleccionados para la producción de vectores de lentivirus y la actividad de CAR en linfocitos T CD38 KO que expresan de forma estable los CAR.

Ejemplo 2 ACTIVIDAD DEL CAR DIRIGIDO CONTRA CS1 EN EL CONTEXTO DE CS1 KO**Presentación de la diana de CS1**

Mieloma múltiple (MM) es una neoplasia maligna de linfocitos B caracterizada por la expansión clónica anómala de las células plasmáticas (PC) en la médula ósea, con unos 21.700 nuevos casos estimados y 10.710 muertes de MM identificadas en los Estados Unidos en 2012 (Siegel R, et al. *Cancer J Clin* 2012 62:10-29). En 2013, se ha estimado que se diagnosticarán de nuevo 22.350 individuos con MM en los Estados Unidos y que morirán de este 10.710 personas, que representan el 20% de las muertes de todas las neoplasias malignas hematológicas. A pesar del uso de inhibidores del proteosoma y de fármacos inmunomoduladores, que han mejorado la supervivencia global (Palumbo A, et al. *Leukemia* 2009 23:449-456), MM sigue siendo una neoplasia maligna incurable (Podar K, et al. *Leukemia* 2009 23:10-24) para la cual se necesitan urgentemente novedosas estrategias terapéuticas.

La glicoproteína CS1 de la superficie celular (denominada también en la bibliografía SLAMF7, CD319 o CRACC - Secuencia de referencia NCBI: NP_067004.3) se expresa mucho y de forma muy ubicua sobre la superficie de las células de mieloma (Hsi ED, et al. *Clin Cancer Res* 2008 14:2775-84). CS1 se expresa a niveles muy bajos en la mayoría de células inmunoefectoras, incluyendo los linfocitos citolíticos naturales (NK), algunos subgrupos de linfocitos T, y linfocitos B normales, y es casi indetectable en células mieloides (Hsi ED, et al. *Clin Cancer Res* 2008 14:2775-84). De forma destacable, CS1 se expresa de forma minoritaria en hemocitoblastos humanos (Hsi ED, et al. *Clin Cancer Res* 2008 14:2775-84), que se pueden usar para el trasplante de citoblastos para tratar neoplasias malignas hematológicas, incluyendo MM. Las funciones de CS1 en MM siguen sin entenderse de forma completa, y se ha documentado que CS1 puede jugar un papel en la adhesión de células de mieloma, crecimiento clonógeno, y tumorigenicidad (Benson DM Jr, et al. *J Clin Oncol* 2012 30:2013-5; Tai YT, et al. *Blood* 2009 113:4309-18).

Estructura del CAR dirigido contra CS1

Las mismas estructuras V1, V2 y V3 se diseñan tal como en el Ejemplo 1 para el CAR monocatenario diana del antígeno dirigido contra CD38, con los mismos componentes en términos de bisagra, dominio transmembrana, dominios de coactivación y dominios de transducción (tales como los representados gráficamente en la Figura 11A y las secuencias que se muestran en la Tabla 18).

En la Tabla 19 se presentan las cadenas VH y VL del scFv dirigido contra CS1. La SEQ ID NO:38-40-42-44-46 y la SEQ ID NO:39-41-43-45-47 corresponden respectivamente a la cadena VH y la cadena VL del scFv Luc63, Luc90, Luc34, LucX1 y LucX2 de murino.

En la Tabla 20 se presentan los CAR dirigidos contra CS1 con el anterior scFv; basándose estos CAR en las versiones V1, V2 y V3 de la Figura 11A, en la que se usan respectivamente la bisagra FcER γ corta, la bisagra CD8 α media y la bisagra IgG1 larga. Las partes subrayadas corresponden a las cadenas VH y VL de scFv unidas por un enlazador.

Tabla 19: Secuencias de las cadenas VH y VL de los anticuerpos scFv dirigidos contra CS1

Nombre	Cadena VH o VL	SEQ ID NO:	Secuencia polipeptídica
Luc63	VH	38	EVKLLSEGGGLVQPGGSLKLSCAASGDFDSRYWMSWVRQAPGKGLEWIG EINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARPDGN YWFYFDVWGAGTTVTVSS
	VL	39	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGIABAWYQQKPGQSPKLLIY WASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGG GTKLEIK
Luc90	VH	40	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYSFTTYWMNWVKQRPGQGLEWI GMIHPSDSETRLNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSSESAVYYCARS TMIATRAMDYWGQGTSTVTVSS
	VL	41	DIVMTQSQKSMSTSVGDRVSITCKASQDVITGVAWYQQKPGQSPKLLIYS ASYRYTGVDPDRFTGSGSGTDFTFTISNVQAEDLAVYYCQQHYSTPLTFGAG TKLEIK
Luc34	VH	42	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYFTTSYWMQWVKQRPGQGLEWI GAIYPGDGDTTRYTKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARG KVVYGSNPFAYWGQGTSTVTVSA
	VL	43	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNLAWYQQKPGNAPRLISG ATSLETGVPSRFSGSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGG TKLEIK
LucX1	VH	44	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVKQRPGQGLEWI GRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARS TMIATGAMDYWGQGTSTVTVSS
	VL	45	ETTVTQSPASLSMAIGEKVTIRCITSTDIDDDMNWYQQKPGEPKLLISEGN TLRPGVPSRFSSSGYGTDFVTIENMLSEDVADYYCLQSDNLPFTFGGGTKL EIK
LucX2	VH	46	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVKQRPGQGLEWI GRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARS TMIATGAMDYWGQGTSTVTVSS
	VL	47	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYS ASYRYTGVDPDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPPYTFGG GTKLEIK

Tabla 20: Secuencia polipeptídica de CAR dirigidos contra CS1 basados en las versiones V1, V2 y V3 en la Figura 11A

Nombre del CAR	SEQ ID n.º	Secuencia polipeptídica
Luc63-V1 CAR	48	MALPVTALLPLALLHAARPEVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGDFDSRYWMSWVRQAPGKGL EWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARPDGNYWFYFDVWGAG TTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGIABAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIKGLAV STISSFFPPGYQKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ QQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKG ERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
Luc63-V2 CAR	49	MALPVTALLPLALLHAARPEVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGDFDSRYWMSWVRQAPGKGL EWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARPDGNYWFYFDVWGAG TTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGIABAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIKTTTP APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL LSTATKDTYDALHMQALPPR

Nombre del CAR	SEQ ID n.º	Secuencia polipeptídica
Luc63-V3 CAR	50	<u>MALPVTALLPLALLHAARPEVKLLES</u> <u>GGGLVQPGGSLKLS</u> <u>CAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGL</u> <u>EWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARPD</u> <u>GNVWYFDVWGAG</u> <u>TTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDV</u> <u>GIABAWYQQKPGQ</u> <u>SPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGT</u> <u>KLEIKEPKS</u> <u>PKDTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF</u> <u>FNWYVDGVEVHN</u> <u>AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG</u> <u>QPREPQVYTLPPS</u> <u>RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSG</u> <u>SFFLYSKLTVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG</u> <u>CSCRFPEEEEGGC</u> <u>ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP</u> <u>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ</u> <u>KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
Luc90-V1 CAR	51	<u>MALPVTALLPLALLHAARPOVQLQOPGAELVRPGASVKLSCKASGY</u> <u>SFTTYWMNWVKQRPQG</u> <u>GLEWIGMIHPSDSETRLNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDS</u> <u>AVYYCARSTMIATRAMDY</u> <u>WGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSQKSMSTSVGDRVSITCKASQDV</u> <u>ITGVAWYQ</u> <u>QKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTISNVQAEDLAVYYCQ</u> <u>QHYSTPLTFGAGTKLEL</u> <u>KGLAVSTISSFFPPGYQKGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG</u> <u>CSCRFPEEEEGGC</u> <u>ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP</u> <u>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ</u> <u>KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
Luc90-V2 CAR	52	<u>MALPVTALLPLALLHAARPOVQLQOPGAELVRPGASVKLSCKASGY</u> <u>SFTTYWMNWVKQRPQG</u> <u>GLEWIGMIHPSDSETRLNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDS</u> <u>AVYYCARSTMIATRAMDY</u> <u>WGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSQKSMSTSVGDRVSITCKASQDV</u> <u>ITGVAWYQ</u> <u>QKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTISNVQAEDLAVYYCQ</u> <u>QHYSTPLTFGAGTKLEL</u> <u>KTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYI</u> <u>WAPLAGTCGVLLSLVITLYC</u> <u>KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG</u> <u>CSCRFPEEEEGGC</u> <u>ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP</u> <u>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ</u> <u>KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
Luc90-V3 CAR	53	<u>MALPVTALLPLALLHAARPOVQLQOPGAELVRPGASVKLSCKASGY</u> <u>SFTTYWMNWVKQRPQG</u> <u>GLEWIGMIHPSDSETRLNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDS</u> <u>AVYYCARSTMIATRAMDY</u> <u>WGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSQKSMSTSVGDRVSITCKASQDV</u> <u>ITGVAWYQ</u> <u>QKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTISNVQAEDLAVYYCQ</u> <u>QHYSTPLTFGAGTKLEL</u> <u>KEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF</u> <u>FNWYVDG</u> <u>VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG</u> <u>QPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSG</u> <u>SFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG</u> <u>CSCRFPEE</u> <u>EEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP</u> <u>EMGGKPRRKNPQEG</u> <u>LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
Luc34-V1 CAR	54	<u>MALPVTALLPLALLHAARPOVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGY</u> <u>TFTSYWMQWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGAIYPGDGDTRYTKQFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDS</u> <u>AVYYCARGKVYVYGSNPFAYW</u> <u>GQGTSLTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINN</u> <u>WLAWYQQK</u> <u>PGNAPRLISGATSLETGVP</u> <u>SRFSGSGSKDYTLSTLSLTQEDVATYYCQY</u> <u>WSTPWTFGGGTKLEIK</u> <u>GLAVSTISSFFPPGYQKGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG</u> <u>CSCRFPEEEEGGC</u> <u>ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP</u> <u>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ</u> <u>KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
Luc34-V2 CAR	55	<u>MALPVTALLPLALLHAARPOVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGY</u> <u>TFTSYWMQWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGAIYPGDGDTRYTKQFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDS</u> <u>AVYYCARGKVYVYGSNPFAYW</u> <u>GQGTSLTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINN</u> <u>WLAWYQQK</u> <u>PGNAPRLISGATSLETGVP</u> <u>SRFSGSGSKDYTLSTLSLTQEDVATYYCQY</u> <u>WSTPWTFGGGTKLEIK</u> <u>TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYI</u> <u>WAPLAGTCGVLLSLVITLYC</u> <u>RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG</u> <u>CSCRFPEEEEGGC</u> <u>ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP</u> <u>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQ</u> <u>KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>

Nombre del CAR	SEQ ID n.º	Secuencia polipeptídica
Luc34-V3 CAR	56	<u>MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYFTSYWMQWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGAIYPGDGDTTRYTKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARGKVYYGSPNFAYW</u> <u>GQGTLTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAWYQQK</u> <u>PGNAPRLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKDYLSITSLQTEDVATYYCQYQWSTPWTFGGGTKLEIK</u> <u>EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE</u> <u>VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT</u> <u>LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW</u> <u>QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEE</u> <u>EGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY</u> <u>NELOKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
LucX1-V1 CAR	57	<u>MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSTMIATGAMDYW</u> <u>GQGTSTVSAGGGGSGGGGSGGGGSETTVTQSPASLSMAIGEKVITRCITSTDIDDDMNWYQQKP</u> <u>GEPPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFVTIENMLSEDVADYYCQSDNLPLTFGGGKLEIKGL</u> <u>AVSTISSFFPPGYQKRGKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPA</u> <u>YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM</u> <u>KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
LucX1-V2 CAR	58	<u>MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYFTSYWMQWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGAIYPGDGDTTRYTKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARGKVYYGSPNFAYW</u> <u>GQGTLTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITCKASDHINNWLAWYQQK</u> <u>PGNAPRLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKDYLSITSLQTEDVATYYCQYQWSTPWTFGGGTKLEIK</u> <u>TTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLSLVITLYCK</u> <u>RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELN</u> <u>LGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGL</u> <u>YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
LucX1-V3 CAR	59	<u>MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSTMIATGAMDYW</u> <u>GQGTSTVSAGGGGSGGGGSGGGGSETTVTQSPASLSMAIGEKVITRCITSTDIDDDMNWYQQKP</u> <u>GEPPKLLISEGNTLRPGVPSRFSGSGYGTDFVTIENMLSEDVADYYCQSDNLPLTFGGGKLEIKPK</u> <u>SPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL</u> <u>PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ</u> <u>GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGG</u> <u>CELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL</u> <u>QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
LucX2-V1 CAR	60	<u>MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSTMIATGAMDYW</u> <u>GQGTSTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQ</u> <u>KPGQSPKLLIYASRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTISSVQAEDLAVYYCQHYSTPPYTFGGGKLEI</u> <u>KGLAVSTISSFFPPGYQKRGKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSAD</u> <u>APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE</u> <u>IGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>
LucX2-V2 CAR	61	<u>MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSTMIATGAMDYW</u> <u>GQGTSTVSAGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQ</u> <u>KPGQSPKLLIYASRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTISSVQAEDLAVYYCQHYSTPPYTFGGGKLEI</u> <u>TTTTAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLSLVITLYC</u> <u>KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL</u> <u>NLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDG</u> <u>LYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>

Nombre del CAR	SEQ ID n.º	Secuencia polipeptídica
LucX2-V3 CAR	62	<u>MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVKQRPQGQ</u> <u>LEWIGRIYPGDGDTKYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVDSAVYFCARSTMIATGAMDYW</u> <u>GQGTSTVTSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQ</u> <u>KPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDFFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPPYTFGGGTKEI</u> <u>KEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG</u> <u>VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV</u> <u>YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> <u>KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEG</u> <u>LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</u>

Estrategia para el diseño mediante ingeniería genética del CAR CS1+ y KO CS1

- 5 CS1 se expresa a altos niveles en células plasmacitoides de pacientes con mieloma múltiple, haciendo de este una interesante diana para el desarrollo de CAR. Los linfocitos T, especialmente el subgrupo CD8, expresan bajos niveles de CS1, lo que es un inconveniente para el desarrollo de CAR de linfocitos T, debido a que podrían destruirse cuando expresan un CAR dirigido contra CS1.
- 10 En este ejemplo, los inventores evaluaron la actividad del CAR Luc90-v2 (la secuencia se muestra en la Tabla 20) en linfocitos T humanos que, o bien se transfectaron de forma simulada, como se transfectaron con un TALEN que se dirigía al gen CS1 (SLAMF7), para observar si se potenció la actividad de CAR cuando se alteró el gen CS1 en los linfocitos T CAR+. En la Figura 12 se muestra el curso del experimento.
- 15 Los linfocitos T se purificaron a partir de muestras de capa leucocitaria y se activaron utilizando perlas revestidas de CD3/CD28. Se cotransfectaron las células 72h después de la activación con 10 µg de ARNm el T01_izquierda TAL y 10 µg del ARNm que codifica el T01_derecha TAL. Se muestran las secuencias de los TAL en la Tabla 21 siguiente y las construcciones de plásmidos (T01, T02 y T03) con las repeticiones que se muestran en la Figura 13.
- 20 La Figura 14 muestra la localización diana de los TAL T01, T02 y T03 en el gen CS1 (SLAMF7): T01 y T02 se dirigen al exón 1 (Figura 14A), mientras que T03 se dirige al exón 2 (Figura 14B).

Tabla 21: Secuencias de la diana CS1 y las TALEN para su inactivación

Nombre	TALEN L/R	SEQ ID n.º	Secuencia de ácido nucleico
Diana de T01		63	TGACTTCCAGAGAGCAATATGGCTGGTTCCCAACATGCCTC ACCCTCA
	L	64	TGACTTCCAGAGAGCAA
	R	65	AACATGCCTCACCCTCA
Diana de T02		66	TTCCAGAGAGCAATATGGCTGGTTCCCAACATGCCTCACCC TCATCTA
	L	67	TTCCAGAGAGCAATATG
	R	68	TGCCTCACCCTCATCTA
Diana de T03		69	TTGACTCTATTGTCTGGACCTCAACACAACCCCTCTTGTCAC CATACA
	L	70	TTGACTCTATTGTCTGG
	R	71	CCTCTTGTCACCATACA

- 25 3 días después de la transfección de TALEN, se transdujeron las células con un vector lentivírico recombinante que impulsa la expresión L90-v2 CAR lejos de un promotor EF1a. El vector lentivírico se construye de una manera tal que se acopla la expresión de CAR con la expresión de la BFP (Proteína Fluorescente Azul) a través de un péptido que se salta el ribosoma. El CAR L90-v2 está constituido por un dominio de unión extracelular que reconoce la diana de CS1 (scFv L90) seguido por regiones bisagra y transmembrana derivadas de la proteína hCD8α. La porción intracelular de la molécula contiene un dominio coestimulador derivado de 41BB, seguido por el dominio de señalización CD3γ (secuencias presentadas en la Tabla 18-19-20 previa para los componentes individuales, las secuencias de scFv y CAR respectivamente).
- 30

Se evaluó la eficacia de la transducción 6 días después de la transducción mediante citometría de flujo, tras la expresión de BFP. Se tiñeron también las células con anticuerpos dirigidos contra CD8 y dirigidos contra CS1.

Resultados

Expresión de CAR CS1+

Los resultados de la Figura 16 muestran que las eficacias de transducción son mayores en células transfectadas simuladas que en células que se han transfectado con TALEn que se dirige al gen CS1. Esto es probablemente debido a la destrucción específica de células de linfocitos T que expresan CS1 no transducido, aunque esta población no está afectada cuando las células no expresan ya CS1 como consecuencia de la alteración del gen impulsada por TALEN.

No se observaron diferencias en los niveles de CS1 en este punto temporal entre TALEN o las células transfectadas simuladas (transfección del control negativo sin plásmido), debido a que los niveles de CS1 disminuyen en el tiempo tras la activación inicial de linfocitos T. Por otro lado, se observó una disminución significativa en el % de linfocitos CD8+ en células transfectadas simuladas que expresan CAR en comparación con células CAR+ transfectadas con TALEN, indicando que se ha eliminado una alta proporción de linfocitos CD8+ por los linfocitos T CAR+.

Evaluación de la actividad citotóxica

Se evaluó la actividad citotóxica de estas células 8 días después de la transducción de CAR, cultivando simultáneamente la misma cantidad de células bien con una línea de células que expresan CS1 (células L363) o como una línea de células del control negativo que carece de CS1 (MOLM13). Se midió la viabilidad de las líneas de células diana mediante citometría de flujo 4h después del inicio de los cultivos simultáneos de células. Los resultados que se muestran en la Figura 15A muestran una viabilidad celular reducida de las células CS1(+) cuando se cultivaron simultáneamente con linfocitos T CAR+, aunque no se observó impacto sobre la viabilidad de las células CS1(-). Se calculó la lisis celular específica usando los datos de citometría de flujo, y fue 2 veces mayor cuando las células se han transfectado con TALEn que se dirige al gen CS1 antes de la transducción de CAR (Figura 15B). Debe considerarse que el impacto puede ser incluso mayor, debido a que la cantidad de linfocitos T CAR+ presentes en los cultivos simultáneos es mayor cuando las células se transfectaron de forma simulada (véanse los datos de citometría de flujo de la Figura 16). Los resultados del experimento son los siguientes:

- para la muestra de NTD simulada, el % de células BFP+ es 0,1% y la cantidad de linfocitos CD8+ es del 53,9%;
- para la muestra de TALEn/NTD, el % de células BFP+ es 0,2% y la cantidad de linfocitos CD8+ es del 49,5%;
- para la muestra de L90-2 simulada, el % de células BFP+ es 94% y la cantidad de linfocitos CD8+ es del 1,8%;
- para la muestra de TALEn /L90-2, el % de células BFP+ es del 61% y la cantidad de linfocitos CD8+ es del 8,3%.

Las eficacias de transducción son mayores en células transfectadas simuladas que en células que se han transfectado con TALEn que se dirige al gen CS1 (NTD: no transducido).

Reactivación tras la transducción

A fin de confirmar que se ha alterado el gen CS1 e linfocitos T transfectados con TALEn, las diferentes muestras se reactivaron con perlas CD3/CD28 en DII tras la transducción. 72 h después de la reactivación, las células se tiñeron con anticuerpos dirigidos contra CD8 y anticuerpos dirigidos contra CS1 y se analizó la expresión mediante citometría de flujo.

La Figura 17 muestra las eficacias de transducción y los niveles de expresión de CD8/CS1 en cada muestra. Como se muestra en el panel inferior, se observó un aumento en los niveles de CS1 tras la reactivación en células transfectadas simuladas, mientras que una baja cantidad de células son capaces de expresar CS1 en las poblaciones transfectadas con TALEN.

Los resultados del experimento son los siguientes:

- para la muestra de NTD simulada, el % de células BFP+ es el 0,01%, CS1 se expresa en el 65,2% de células y la cantidad de linfocitos CD8+ es del 80,7%;
- para la muestra de TALEn/NTD, el % de células BFP+ es el 0,2%, CS1 se expresa en el 9,7% de células y la cantidad de linfocitos CD8+ es del 78,8%;
- para la muestra de L90-2 simulada, el % de células BFP+ es el 94%, CS1 se expresa en el 37,5% de células y la cantidad de linfocitos CD8+ es del 16%.
- para la muestra de TALEn /L90-2, la intensidad de BFP es del 61%, la expresión de CS1 es 8,5% y la expresión de CD8 es del 68,5%.

Se observó un aumento en los niveles de CS1 tras la reactivación en células transfectadas simuladas, mientras que una baja cantidad de células son capaces de expresar CS1 en las poblaciones transfectadas con TALEn.

En conjunto, estos resultados indican que el gen CS1 se alteró en linfocitos T transfectados con TALEn, y que esto potencia la actividad citotóxica de las células CAR+ dirigidas contra CS1, preservando principalmente los linfocitos T CD8+ citotóxicos.

5 Ejemplo 3: DIANA DE CD70

Presentación de la diana de CD70

CD70 es una citoquina que se une a CD27 y es parte de la familia TNF (Goodwin R.G. et al, 1993, Cell 73:447-456). Esta proteína tiene un papel en las respuestas adaptativas de los linfocitos T, induce la proliferación de linfocitos T coestimulados y potencia la generación de linfocitos T citolíticos. Su número de registro es P32970 (Uniprot). Algunos estudios tales como en SchLirch, C. *et al.* (J. Clin. Invest., 2012; doi:10.1172/JCI45977) sugieren que el bloqueo de las interacciones de CD27-CD70 podría ayudar a tratar la leucemia mielógena crónica (LMC).

15 Estrategia para CD70 KO

Se llevará a cabo la misma estrategia para la KO del gen CD70 como en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 2. Se diseñaron nucleasas TALE heterodiméricas que se dirigían a dos secuencias de 49 pb de longitud separadas por un separador de 15 pb en el gen CD70 y una nucleasa TALE que se dirigía a una secuencia de 57 pb de longitud separadas por un separador de 23 pb. Cada semidiana se reconoció por las repeticiones de las nucleasas semi TALE relacionadas en la Tabla 22 siguiente.

Tabla 22: Secuencias de la diana CD70 y las TALEN para su inactivación

Nombre	TALEN L/R	SEQ ID n.º	Secuencia de ácido nucleico
		72	TGGTCTTTTCTTCCAGTgggacgtagctgagcTGCAGCTGAATCACACA
Diana 1 TALEN 1	L	73	TGGTCTTTTCTTCCAGT
	R	74	TGCAGCTGAATCACACA
Diana 2 TALEN 2		75	TGGTGATCTGCCTCGTGgtgtgcatccagcgcTTCGCACAGGCTCAGCA
	L	76	TGGTGATCTGCCTCGTG
	R	77	TTCGCACAGGCTCAGCA
Diana 3 TALEN 3		78	TGCGGGCTGCTTTGGTCccattggctcggggcttggtgatCTGCCTCGTGGTG TGCA
	L	79	TGCGGGCTGCTTTGGTC
	R	80	CTGCCTCGTGGTGTGCA

25 Estrategia para la expresión de CAR dirigido contra CD70

Se llevará a cabo la misma estrategia para expresar un CAR dirigido contra CD70 tal como en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 2.

30 Las mismas estructuras V1, V2 y V3 se diseñaron tal como en el Ejemplo 1-2 con los mismos componentes en términos de un péptido de señalización, un enlazador entre las cadenas VH y VL, un dominio transmembrana, dominios de coactivación y dominios de transducción (se muestran las arquitecturas generales en la Figura 11A, y las secuencias para los componentes individuales que se muestran en la Tabla 18). Solo la bisagra difiere entre las 3 versiones V1, V2 y V3, en la que se usan respectivamente la bisagra FcERy corta, la bisagra CD8α media y la bisagra IgG1 larga.

35 En la Tabla 23 se presentan la cadena VH y VL del scFv dirigido contra CD70. La SEQ ID NO: 81-82, 85-86, 89-90 y la SEQ ID NO: 83-84, 87-88, 91-92 corresponden respectivamente a la cadena VH y la cadena VL del scFv Ab4, Ab8 de AMGEN y 1F6 de Seattle Genetics.

40 En la Tabla 24 se presentan los CAR dirigidos contra CD70 con el anterior scFv; basándose estos CAR en las versiones V1, V2 y V3 de acuerdo con la Figura 11A, en la que se usan respectivamente una bisagra FcEγ corta, una bisagra CD8 media y una bisagra IgG1 larga.

Tabla 23: Secuencias de polinucleótidos y ácidos nucleicos de las cadenas de VH y VL de los scFV de los anticuerpos Ab4, Ab8, y 1F6 dirigidos contra CD70

Nombre	Cadena VH o VL	SEQ ID n.º	Secuencia de polipéptido o de ácido nucleico
Ab4	VH	81	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGIHWVRQAPGKGLE WVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGGYSGYDSGFDYWGGTLTVSS
		82	caggtgcagctgggtgagctctgggggagggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt gcagcgtctggattcaccttcagtaactatggcatacactgggtccgccaggctccaggcaaggg gctggagtggtggcagttatgtgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagg gccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgaga gccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagatggaggatatagttggtacgattcgggggtt gactactggggccagggaacccgtgtcaccgtctcctcagctagcaccaggccatccgtcttc cccctggcaccctctccaagagcacctctgggggacagcggcctgggctgcctggtcaagga ctacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctt cccggctgtctacagctcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcag cttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacagccagcaacaccaaggtggacaag aaagttgagcccaatcttgtagaaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcct ggggggaccgtcagttctcttcccccaaaaaccaaggacacctcatgatctcccgacccc tgaggtcacatgcgtggtggtgacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacg tggacggcgtggaggtgcataatccaagacaaagccgaggaggagcagtaacacagcacgt accgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgc aaggtctcaaaaagccctccagcccccacgagaaaacctctcaaaagccaaagggcagc cccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcag cctgacctgctggtcaaaggcttctatccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggc agccggagaacaactacaagaccacgctccgtgctggactccgacggctcttctctctata gcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatcat gaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaaatga
	VL	83	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLLNSNGYNYLDWYLQKPGQS PQFLIYLGSYRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCIQTLQ TPFTFGPGTKVDIK
		84	Gatattgtgatgactcagctctccactctccctgccgtcacccctggagagccggcctccatctcct gcaggtctagttagagcctcctgaatagtaatggatacaactatttgattggtacctgcagaagc cagggcagctccacagttcctgatctatttggttcttatcgggcctccggggctcctgacaggttc agtggcagtggtcagggcacagattttactgagaatcagcagagtgaggagctgaggatgttg ggtttattactgtatacaaaactctacaaactccattcactttcggccctgggaccaaagtggtatc aaacgtacgggtgctgcacatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaa ctgctctgtgtgtgctgctgaataacttctatccagagaggccaaagtacagtggaaggtgg ataacgccctcaatcggttaactccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagcac ctacagcctcagcagcaccctgacgtgagcaagcagactacgagaaacacaaagttacgcc tgcaagtcaaccatcagggcctgagctcgcctgcacaaagagcttaacaggggagagtggtta gtcctca53ggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcagcttgggcacccag acctacatctgcaactgaaatcacagccagcaacaccaaggtggacaagaagttgagcca aatcttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggacgtca gtcttctcttcccccaaaaaccaaggacacctcatgatctccggacccctgaggtcatatgc gtggtggtgacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga ggtgcataatgccaagacaaagccgaggaggagcagtaacacagcagctaccgtgtggtcagc gtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtcaaggtctccaaca agccctccagcccccacgagaaaacctctcaaaagccaaagggcagccccgagaaccacag gtgtacacctgccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggt caaaggtcttctatccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaac tacaagaccacgctccgtgctgactccgacggctccttctctctatagcaagctcaccgtgg acaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgatgaggctctgcacaac cactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaaa

Nombre	Cadena VH o VL	SEQ ID n.º	Secuencia de polipéptido o de ácido nucleico
Ab8	VH	85	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVIWYDGSDDKYFADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGIAGARYVYFDYWGGQGLTVTVSS
		86	cagggtgcagctgggtgagctctgggggaggcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgt gcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtccgccaggtccaggcaaggg gctggagtgggtggcagttatatggatgatggaagtataaatactttgcagactccgtgaaggg ccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagag ccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagatgggatagcaggagctgcctacgtctactttg actactggggccagggaacctgtgacccgtctcctcagctagcaccaaggcccatcgtcttcc ccctggcaccctctccaagagcacctctgggggcacagcgccctgggtgctgctgtaaggac tacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcgctgcacaccttc cggctgtcctacagtcctcaggactctactccct
	VL	87	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIY AASSLQGGVPSKFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYNPFTF GPGTTVDIK
		88	gacatccagatgacccagctcctatcctcctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcactt gtcgggagcagtcagggcattagcaattatttagcctgggttcagcagaaaccagggaagccct aagtcctgatctatgtcgtcatccagtttgcaaggtgggtcccatcaaagttcagcggcagtgga tctgggacagatttactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaactattactgcc aacaatattataattaccattcactttcgccctgggaccacagtgatatacaacgtacgggtgg ctgcaccatctgtcttcatcttccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtg tgctgtgtaataacttctatccagagaggccaagtacagtggaagtggaataacgcctcca atcgggtaactcccaggagagtgacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagc agcaccctgacgtgagcaagcagactacgagaacacaaagtctacgctgcgaagtcacc atcagggcctgagctcggcgtcacaagagcttcaacaggggagagtgtag
1F6	VH	89	QIQLVQSGPEVKKPGETVKISKASGYFTFTNYGMNWWVKQAPGKGLK WMGINTYTGEPTYADAFKGRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYF CARDYGDYGM DYWGQGSVTVSS
		90	atggcttggtgtggaccttgctattcctgatggcagctgccccaaagtccccaacacagatccag ttggtgagctctggacctgaggtgaagaagcctggagagacagtcagatctctgcaaggttc tggtataccttcaaaactatggaatgaactgggtgaagcaggctccaggaaagggttaag ggatgggtgataaaacactacactggagagccaacatagctgatgccttcaaggacgggtt gccttctcttgaaacctctgccagcactgcctatttgagatcaacaacctcaaaatgaggac acggctacatattctgtgcaagagactacggcgactatggtatggactactgggtcaaggaa ctcagtcaccgtctcctca
	VL	91	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSFMHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHSREV PWTFGGGKLEIKR
		92	atggagacagacacactcctgttatgggtactgtgctctgggttcagggttcactggtgacattg tgctgacacagctcctgcttcttagctgtatctctggggcagaggccaccatctcatgcagggc cagcaaaagtgtcagtagctctgctatagttttatgcactggtatcaacagaaaccaggacagc caccctcctcatctatcttgcatccaacctagaatctgggtccctgacaggttcagtgagcag tggtctgggacagactcaccctcaacatccatcctgtggaggaggaggtgctgaacctatta ctgtcagcacagtagggaggttcgtggacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaacgg

Tabla 24: Secuencias polipeptídicas de CAR dirigidos contra CD70 basados en las versiones V1, V2 y V3 de acuerdo con la Figura 11A

Nombre del CAR	SEQ ID NO:	Secuencia polipeptídica
Ab4-V1 CAR	93	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYGIHWVR QAPGKGLEWVAVIWDGSDNYKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGGYSGYDSGFDYWGGQTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSLPVT PGEPASISCRSSQSLNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQFLIYLSYRASGVPDRFSGSGS GTDFTLRISRVEAEDVGVYYCIQTLQTPFTFGPGTKVDIKGLAVSTISSFFPPGYQYIYIWA PLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
Ab4-V2 CAR	94	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYGIHWVR QAPGKGLEWVAVIWDGSDNYKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGGYSGYDSGFDYWGGQTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSLPVT PGEPASISCRSSQSLNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQFLIYLSYRASGVPDRFSGSGS GTDFTLRISRVEAEDVGVYYCIQTLQTPFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTAPTASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA PLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
Ab4-V3 CAR	95	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYGIHWVR QAPGKGLEWVAVIWDGSDNYKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGGYSGYDSGFDYWGGQTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSLPVT PGEPASISCRSSQSLNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQFLIYLSYRASGVPDRFSGSGS GTDFTLRISRVEAEDVGVYYCIQTLQTPFTFGPGTKVDIKEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAG PSVFLFPPKPKDTLMITPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYIWA PLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR
Ab8-V1 CAR	96	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWDGSDKYFADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGIAGARYVYFDYWGGQTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQGGVPSKFSGSGSGTDF TLTISSLPEDFATYYCQYYNYPFTFGPGTTVDIKGLAVSTISSFFPPGYQYIYIWA PLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
Ab8-V2 CAR	97	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWDGSDKYFADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGIAGARYVYFDYWGGQTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQGGVPSKFSGSGSGTDF TLTISSLPEDFATYYCQYYNYPFTFGPGTTVDIKTTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA PLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ EEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR

Nombre del CAR	SEQ ID NO:	Secuencia polipeptídica
Ab8-V3 CAR	98	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWDGSDKYFADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGIAGARYVYFDYWGGQGLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQGGVPSKFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYYNYPFTFGPGTTVDI KEPKSPDKTHTCPPCP APPVAGPSVFL <u>FPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS</u> <u>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL</u> <u>VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE</u> <u>ALHNHYTQKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE</u> DGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
1F6 V1 CAR	99	MALPVTALLPLALLLHAARPQIQLVQSGPEVKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVK QAPGKGLKWMGINTYTGEPTYADAFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNE DTATYFC ARDYGDYGM DYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRA TISCRASKSVSTSGYSFMHWYQQKPGQPPKLLIYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTL NIHPVEEEDAATYYCQHSREVPWTFGGGTKEIKRGLAVSTISSFFPPGYQIYIWAPLAGT CGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE DGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEA YSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR
1F6 V2 CAR	100	MALPVTALLPLALLLHAARPQIQLVQSGPEVKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVK QAPGKGLKWMGINTYTGEPTYADAFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNE DTATYFC ARDYGDYGM DYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRA TISCRASKSVSTSGYSFMHWYQQKPGQPPKLLIYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTL NIHPVEEEDAATYYCQHSREVPWTFGGGTKEIKR TTTPAPRPPT PAPTASQPLSLRPEA <u>CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT</u> <u>QEE DGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD</u> <u>PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDA</u> <u>LHM</u> QALPPR
1F6 V3 CAR	101	MALPVTALLPLALLLHAARPQIQLVQSGPEVKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVK QAPGKGLKWMGINTYTGEPTYADAFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNE DTATYFC ARDYGDYGM DYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRA TISCRASKSVSTSGYSFMHWYQQKPGQPPKLLIYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTL NIHPVEEEDAATYYCQHSREVPWTFGGGTKEIKR EPKSPDKTHTCPPCP APPVAGPSVFL <u>LFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV</u> <u>SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL</u> <u>VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE</u> <u>ALHNHYTQKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE</u> DGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR

BIBLIOGRAFÍA

- 5 Bardenheuer, W., K. Lehmborg, et al. (2005). "Resistance to cytarabine and gemcitabine and in vitro selection of transduced cells after retroviral expression of cytidine deaminase in human hematopoietic progenitor cells." *Leukemia* **19** (12): 2281-8.
- 10 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.

- Brewin, J., C. Mancao, et al. (2009). "Generation of EBV-specific cytotoxic T cells that are resistant to calcineurin inhibitors for the treatment of posttransplantation lymphoproliferative disease." Blood **114** (23): 4792-803.
- 5 Cambier, J.C. (1995) "Antigen and Fc Receptor Signaling:The Awesome Power of the Immunoreceptor Tyrosine-1 Based Activation Motif (ITAM)" The Journal of Immunology **155** (7) 3281-3285.
- Cong, L., F. A. Ran, et al. (2013). "Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems." Science **339** (6121): 819-23.
- 10 Critchlow, S. E. y S. P. Jackson (1998). "DNA end-joining: from yeast to man." Trends Biochem Sci **23** (10): 394-8.
- Dalgaard, J. 1., A. J. Klar, et al. (1997). "Statistical modeling and analysis of the LAGLIDADG family of site-specific endonucleases and identification of an intein that encodes a site-specific endonuclease of the HNH family." Nucleic Acids Res **25** (22): 4626-38.
- 15 Deltcheva, E., K. Chylinski, et al. (2011). "CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III." Nature **471** (7340): 602-7.
- 20 Garneau, J. E., M. E. Dupuis, et al. (2010). "The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA." Nature **468** (7320): 67-71.
- Gasiunas, G., R. Barrangou, et al. (2012). "Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria." Proc Natl Acad Sci U S A **109** (39): E2579-86.
- 25 Hacke, K., J. A. Treger, et al. (2013). "Genetic modification of mouse bone marrow by lentiviral vector-mediated delivery of hypoxanthine-Guanine phosphoribosyltransferase short hairpin RNA confers chemoprotection against 6-thioguanine cytotoxicity." Transplant Proc **45** (5): 2040-4.
- 30 Jena, B., G. Dotti, et al. (2010). "Redirecting T-cell specificity by introducing a tumor-specific chimeric antigen receptor." Blood **116** (7): 1035-44.
- Jinek, M., K. Chylinski, et al. (2012). "A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity." Science **337** (6096): 816-21.
- 35 Jonnalagadda, M., C. E. Brown, et al. (2013). "Engineering human T cells for resistance to methotrexate and mycophenolate mofetil as an in vivo cell selection strategy." PLoS One **8** (6): e65519.
- Kushman, M. E., S. L. Kabler, et al. (2007). "Expression of human glutathione S-transferase P1 confers resistance to benzo[a]pyrene or benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol mutagenesis, macromolecular alkylation and formation of stable N2-Gua-BPDE adducts in stably transfected V79MZ cells co-expressing hCYP1A1." Carcinogenesis **28** (1): 207-14.
- 40 Lackner, G., N. Moebius, et al. (2011). "Complete genome sequence of Burkholderia rhizoxinica, an Endosymbiont of Rhizopus microsporus." J Bacteriol **193** (3): 783-4.
- 45 Ma, J. L., E. M. Kim, et al. (2003). "Yeast Mre11 and Rad51 proteins define a Ku-independent mechanism to repair double-strand breaks lacking overlapping end sequences." Mol Cell Biol **23** (23): 8820-8.
- 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.
- 50 Mali, P., L. Yang, et al. (2013). "RNA-guided human genome engineering via Cas9." Science **339** (6121): 823-6.
- Metzger, H. et al. (1986) "The Receptor with High Affinity for Immunoglobulin E" Annual Review of Immunology. 4: 419-470
- 55 Moscou, M. J. y A. J. Bogdanove (2009). "A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors." Science **326** (5959): 1501.
- Nivens, M. C., T. Felder, et al. (2004). "Engineered resistance to camptothecin and antifolates by retroviral coexpression of tyrosyl DNA phosphodiesterase-I and thymidylate synthase." Cancer Chemother Pharmacol **53** (2): 107-15.
- 60 Park, T. S., S. A. Rosenberg, et al. (2011). "Treating cancer with genetically engineered T cells." Trends Biotechnol **29** (11): 550-7.
- 65 Sangiolo, D., M. Lesnikova, et al. (2007). "Lentiviral vector conferring resistance to mycophenolate mofetil and

sensitivity to ganciclovir for in vivo T-cell selection." *Gene Ther* **14** (21): 1549-54.

Schweitzer, B. I., A. P. Dicker, et al. (1990). "Dihydrofolate reductase as a therapeutic target." *Faseb J* **4** (8): 2441-52.

- 5 Sugimoto, Y., S. Tsukahara, et al. (2003). "Drug-selected co-expression of P-glycoprotein and gp91 in vivo from an MDRI-bicistronic retrovirus vector Ha-MDR-IRES-gp91." *J Gene Med* **5** (5): 366-76.

- 10 Takebe, N., S. C. Zhao, et al. (2001). "Generation of dual resistance to 4-hydroperoxycyclophosphamide and methotrexate by retroviral transfer of the human aldehyde dehydrogenase class 1 gene and a mutated dihydrofolate reductase gene." *Mol Ther* **3** (1): 88-96.

Waldmann H. y Hale G. (2005) "CAMPATH: from concept to clinic". *Phil. Trans. R. Soc. B* 360: 1707-1711.

- 15 Yam, P., M. Jensen, et al. (2006). "Ex vivo selection and expansion of cells based on expression of a mutated inosine monophosphate dehydrogenase 2 after HIV vector transduction: effects on lymphocytes, monocytes, and CD34+ stem cells." *Mol Ther* **14** (2): 236-44.

- 20 Zielske, S. P., J. S. Reese, et al. (2003). "In vivo selection of MGMT (P140K) lentivirus-transduced human NOD/SCID repopulating cells without pretransplant irradiation conditioning." *J Clin Invest* **112** (10): 1561-70.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> CELLECTIS

- 25 <120> CÉLULAS PARA INMUNOTERAPIA DISEÑADAS MEDIANTE INGENIERÍA GENÉTICA PARA DIRIGIR ANTÍGENOS PRESENTES EN CÉLULAS INMUNITARIAS Y CÉLULAS PATOLÓGICAS

<130> P81400737PCT00

- 30 <150> PA201470076
<151> 14/02/2014

<160> 101

- 35 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 47

<212> ADN

- 40 <213> homo sapiens

<220>

<223> CD38 diana

- 45 <400> 1

tgagggtgggt tggcgactaa ggcgcaccgg tgggcactgc ggggaca

47

<210> 2

- 50 <211> 936

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

- 55 <223> CD38ex1_T2-L1 TALEN

<400> 2

ES 2 711 498 T3

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
1 5 10 15

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

Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
35 40 45

Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
50 55 60

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
65 70 75 80

Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
85 90 95

ES 2 711 498 T3

Ile	Val	Gly	Val	Gly	Lys	Gln	Trp	Ser	Gly	Ala	Arg	Ala	Leu	Glu	Ala	
			100					105					110			
Leu	Leu	Thr	Val	Ala	Gly	Glu	Leu	Arg	Gly	Pro	Pro	Leu	Gln	Leu	Asp	
		115					120					125				
Thr	Gly	Gln	Leu	Leu	Lys	Ile	Ala	Lys	Arg	Gly	Gly	Val	Thr	Ala	Val	
	130					135					140					
Glu	Ala	Val	His	Ala	Trp	Arg	Asn	Ala	Leu	Thr	Gly	Ala	Pro	Leu	Asn	
145					150					155					160	
Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	
				165					170					175		
Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	
			180					185					190			
His	Gly	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Ile	Gly	
		195					200					205				
Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Ala	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	
	210					215					220					
Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	
225					230					235					240	
Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	
				245					250					255		
Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	
			260					265					270			
Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	
		275					280					285				
Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	
	290					295					300					
Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	
305					310					315					320	
Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	
				325					330					335		
Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	
			340					345					350			

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

	595					600					605				
Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val
	610					615					620				
Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Glu
625					630					635					640
Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Ile	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu
				645					650					655	
Thr	Val	Gln	Ala	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr
			660					665					670		
Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala
		675					680					685			
Leu	Glu	Ser	Ile	Val	Ala	Gln	Leu	Ser	Arg	Pro	Asp	Pro	Ala	Leu	Ala
	690					695					700				
Ala	Leu	Thr	Asn	Asp	His	Leu	Val	Ala	Leu	Ala	Cys	Leu	Gly	Gly	Arg
705					710					715					720
Pro	Ala	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Gly	Leu	Gly	Asp	Pro	Ile	Ser	Arg
				725					730					735	
Ser	Gln	Leu	Val	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg
			740					745					750		
His	Lys	Leu	Lys	Tyr	Val	Pro	His	Glu	Tyr	Ile	Glu	Leu	Ile	Glu	Ile
		755					760					765			
Ala	Arg	Asn	Ser	Thr	Gln	Asp	Arg	Ile	Leu	Glu	Met	Lys	Val	Met	Glu
	770					775					780				
Phe	Phe	Met	Lys	Val	Tyr	Gly	Tyr	Arg	Gly	Lys	His	Leu	Gly	Gly	Ser
785					790					795					800
Arg	Lys	Pro	Asp	Gly	Ala	Ile	Tyr	Thr	Val	Gly	Ser	Pro	Ile	Asp	Tyr
				805					810					815	
Gly	Val	Ile	Val	Asp	Thr	Lys	Ala	Tyr	Ser	Gly	Gly	Tyr	Asn	Leu	Pro
			820					825					830		
Ile	Gly	Gln	Ala	Asp	Glu	Met	Gln	Arg	Tyr	Val	Glu	Glu	Asn	Gln	Thr
		835					840					845			

ES 2 711 498 T3

Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser
850 855 860

Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
865 870 875 880

Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
885 890 895

Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
900 905 910

Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
915 920 925

Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
930 935

<210> 3
<211> 942
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> CD38ex1_T2-R1 TALEN

<400> 3

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

Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ile Asp Ile Ala Asp
20 25 30

Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro
35 40 45

Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His
50 55 60

Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala
65 70 75 80

Leu Gly Thr Val Ala Val Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro
85 90 95

Glu Ala Thr His Glu Ala Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly
100 105 110

Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	625	630	635	640
His	Gly	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	His	Asp	Gly	645	650	655	
Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	660	665	670	
Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	675	680	685	
Gly	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Val	Ala	Gln	Leu	Ser	Arg	690	695	700	
Pro	Asp	Pro	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu	Thr	Asn	Asp	His	Leu	Val	Ala	Leu	705	710	715	720
Ala	Cys	Leu	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Gly	Leu	725	730	735	
Gly	Asp	Pro	Ile	Ser	Arg	Ser	Gln	Leu	Val	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Glu	740	745	750	
Lys	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	His	Lys	Leu	Lys	Tyr	Val	Pro	His	Glu	Tyr	755	760	765	
Ile	Glu	Leu	Ile	Glu	Ile	Ala	Arg	Asn	Ser	Thr	Gln	Asp	Arg	Ile	Leu	770	775	780	
Glu	Met	Lys	Val	Met	Glu	Phe	Phe	Met	Lys	Val	Tyr	Gly	Tyr	Arg	Gly	785	790	795	800
Lys	His	Leu	Gly	Gly	Ser	Arg	Lys	Pro	Asp	Gly	Ala	Ile	Tyr	Thr	Val	805	810	815	
Gly	Ser	Pro	Ile	Asp	Tyr	Gly	Val	Ile	Val	Asp	Thr	Lys	Ala	Tyr	Ser	820	825	830	
Gly	Gly	Tyr	Asn	Leu	Pro	Ile	Gly	Gln	Ala	Asp	Glu	Met	Gln	Arg	Tyr	835	840	845	
Val	Glu	Glu	Asn	Gln	Thr	Arg	Asn	Lys	His	Ile	Asn	Pro	Asn	Glu	Trp	850	855	860	
Trp	Lys	Val	Tyr	Pro	Ser	Ser	Val	Thr	Glu	Phe	Lys	Phe	Leu	Phe	Val	865	870	875	880

ES 2 711 498 T3

Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn
885 890 895

His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu
900 905 910

Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val
915 920 925

Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
930 935 940

<210> 4
<211> 49
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<223> CD38ex1_T4 diana
<400> 4

Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly
1 5 10 15

Thr Gly Thr Cys Cys Gly Gly Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ala Cys Cys
20 25 30

Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Cys Thr Cys Thr Cys Thr
35 40 45

Ala

<210> 5
<211> 970
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> CD38ex1_T4-L TALEN
<400> 5

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
1 5 10 15

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

Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
545 550 555 560

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
565 570 575

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
580 585 590

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
595 600 605

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
610 615 620

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
625 630 635 640

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
645 650 655

Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
660 665 670

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
675 680 685

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
690 695 700

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg
705 710 715 720

Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala
725 730 735

Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly
740 745 750

Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile
755 760 765

Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu
770 775 780

Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile
785 790 795 800

ES 2 711 498 T3

Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val
 805 810 815
 Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly
 820 825 830
 Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile
 835 840 845
 Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn
 850 855 860
 Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn
 865 870 875 880
 Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr
 885 890 895
 Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe
 900 905 910
 Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn
 915 920 925
 Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu
 930 935 940
 Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe
 945 950 955 960
 Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
 965 970

<210> 6
 <211> 942
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> CD38ex1_T4-R TALEN

<400> 6

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

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 290 295 300

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

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 325 330 335

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
 340 345 350

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 355 360 365

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
 370 375 380

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 385 390 395 400

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 405 410 415

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 420 425 430

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 435 440 445

Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu
 450 455 460

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 465 470 475 480

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 485 490 495

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 500 505 510

Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 515 520 525

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

ES 2 711 498 T3

530					535					540					
Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	His	Asp	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu
545					550					555					560
Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr
				565					570					575	
Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala
			580					585					590		
Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly
		595					600					605			
Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	His	Asp	Gly	Gly	Lys
	610						615					620			
Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala
625							630					635			640
His	Gly	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly
				645					650					655	
Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys
			660						665					670	
Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn
		675					680						685		
Ile	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Val	Ala	Gln	Leu	Ser	Arg
	690						695					700			
Pro	Asp	Pro	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu	Thr	Asn	Asp	His	Leu	Val	Ala	Leu
705						710					715				720
Ala	Cys	Leu	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Gly	Leu
				725					730					735	
Gly	Asp	Pro	Ile	Ser	Arg	Ser	Gln	Leu	Val	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Glu
			740					745					750		
Lys	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	His	Lys	Leu	Lys	Tyr	Val	Pro	His	Glu	Tyr
		755					760					765			
Ile	Glu	Leu	Ile	Glu	Ile	Ala	Arg	Asn	Ser	Thr	Gln	Asp	Arg	Ile	Leu
	770					775						780			

ES 2 711 498 T3

Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly
785 790 795 800

Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val
805 810 815

Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser
820 825 830

Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr
835 840 845

Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp
850 855 860

Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val
865 870 875 880

Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn
885 890 895

His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu
900 905 910

Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val
915 920 925

Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
930 935 940

<210> 7
<211> 49
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<223> CD38ex1_T5
<400> 7

Thr Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Gly Thr Cys Gly Thr Gly Gly Thr
1 5 10 15

Gly Cys Thr Cys Gly Cys Gly Gly Thr Gly Gly Thr Cys Gly Thr Cys
20 25 30

Cys Cys Gly Ala Gly Gly Thr Gly Gly Cys Gly Cys Cys Ala Gly Cys
35 40 45

Ala

ES 2 711 498 T3

<210> 8
 <211> 936
 <212> PRT
 5 <213> secuencia artificial

 <220>
 <223> CD38ex1_T5-L TALEN

 10 <400> 8

```

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
1          5          10          15

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

Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
35          40          45

Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
50          55          60

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
65          70          75          80

Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
85          90          95

Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
100         105         110

Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
115         120         125

Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val
130         135         140

Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
145         150         155         160

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
165         170         175

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
180         185         190

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
195         200         205
  
```

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

450					455					460					
His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly
465					470					475					480
Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys
				485					490					495	
Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	His
			500					505						510	
Asp	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val
		515					520					525			
Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala
	530					535					540				
Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu
545					550					555					560
Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala
				565					570					575	
Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg
			580					585					590		
Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val
		595					600					605			
Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val
	610					615					620				
Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Glu
625					630					635					640
Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu
			645						650					655	
Thr	Val	Gln	Ala	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr
			660					665					670		
Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala
		675					680					685			
Leu	Glu	Ser	Ile	Val	Ala	Gln	Leu	Ser	Arg	Pro	Asp	Pro	Ala	Leu	Ala
	690					695					700				

ES 2 711 498 T3

Ala	Leu	Thr	Asn	Asp	His	Leu	Val	Ala	Leu	Ala	Cys	Leu	Gly	Gly	Arg	
705					710					715					720	
Pro	Ala	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Gly	Leu	Gly	Asp	Pro	Ile	Ser	Arg	
				725					730					735		
Ser	Gln	Leu	Val	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	
			740					745					750			
His	Lys	Leu	Lys	Tyr	Val	Pro	His	Glu	Tyr	Ile	Glu	Leu	Ile	Glu	Ile	
		755					760					765				
Ala	Arg	Asn	Ser	Thr	Gln	Asp	Arg	Ile	Leu	Glu	Met	Lys	Val	Met	Glu	
	770					775					780					
Phe	Phe	Met	Lys	Val	Tyr	Gly	Tyr	Arg	Gly	Lys	His	Leu	Gly	Gly	Ser	
785					790					795					800	
Arg	Lys	Pro	Asp	Gly	Ala	Ile	Tyr	Thr	Val	Gly	Ser	Pro	Ile	Asp	Tyr	
				805					810					815		
Gly	Val	Ile	Val	Asp	Thr	Lys	Ala	Tyr	Ser	Gly	Gly	Tyr	Asn	Leu	Pro	
			820					825					830			
Ile	Gly	Gln	Ala	Asp	Glu	Met	Gln	Arg	Tyr	Val	Glu	Glu	Asn	Gln	Thr	
		835					840					845				
Arg	Asn	Lys	His	Ile	Asn	Pro	Asn	Glu	Trp	Trp	Lys	Val	Tyr	Pro	Ser	
	850					855					860					
Ser	Val	Thr	Glu	Phe	Lys	Phe	Leu	Phe	Val	Ser	Gly	His	Phe	Lys	Gly	
865					870					875					880	
Asn	Tyr	Lys	Ala	Gln	Leu	Thr	Arg	Leu	Asn	His	Ile	Thr	Asn	Cys	Asn	
				885					890					895		
Gly	Ala	Val	Leu	Ser	Val	Glu	Glu	Leu	Leu	Ile	Gly	Gly	Glu	Met	Ile	
			900					905					910			
Lys	Ala	Gly	Thr	Leu	Thr	Leu	Glu	Glu	Val	Arg	Arg	Lys	Phe	Asn	Asn	
		915					920					925				
Gly	Glu	Ile	Asn	Phe	Ala	Ala	Asp									
	930					935										

<210> 9
 <211> 942
 <212> PRT

ES 2 711 498 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> CD38ex1_T5-R TALEN

5

<400> 9

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

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Ile	Ala	Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	
				485					490						495	
Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	
			500					505					510			
Val	Ala	Ile	Ala	Ser	His	Asp	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	
		515					520					525				
Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	
	530					535					540					
Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	His	Asp	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	
545					550					555					560	
Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	
				565					570						575	
Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Ile	Gly	Gly	Lys	Gln	Ala	
			580					585					590			
Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	His	Gly	
		595					600					605				
Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	Asn	Gly	Gly	Lys	
	610					615					620					
Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	Gln	Ala	
625					630					635					640	
His	Gly	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	His	Asp	Gly	
				645					650					655		
Gly	Lys	Gln	Ala	Leu	Glu	Thr	Val	Gln	Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Leu	Cys	
			660					665					670			
Gln	Ala	His	Gly	Leu	Thr	Pro	Gln	Gln	Val	Val	Ala	Ile	Ala	Ser	Asn	
		675					680					685				
Ile	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Val	Ala	Gln	Leu	Ser	Arg	
	690					695					700					
Pro	Asp	Pro	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu	Thr	Asn	Asp	His	Leu	Val	Ala	Leu	
705					710					715					720	
Ala	Cys	Leu	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Gly	Leu	
				725					730					735		

ES 2 711 498 T3

Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu
 740 745 750
 Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr
 755 760 765
 Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu
 770 775 780
 Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly
 785 790 795 800
 Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val
 805 810 815
 Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser
 820 825 830
 Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr
 835 840 845
 Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp
 850 855 860
 Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val
 865 870 875 880
 Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn
 885 890 895
 His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu
 900 905 910
 Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val
 915 920 925
 Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
 930 935 940

<210> 10
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> Daratumumab-cadena VH

<400> 10

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 11
<211> 214
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Daratumumab-cadena VL

<400> 11

ES 2 711 498 T3

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

<210> 12
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> MOR202-cadena VH

ES 2 711 498 T3

<400> 12

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

5

<210> 13
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

10

<220>
 <223> MOR202-cadena VL

15

<400> 13

Asp	Ile	Glu	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Gln	1	5	10	15
Thr	Ala	Arg	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Asp	Asn	Leu	Arg	His	Tyr	Tyr	Val	20	25	30	
Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr	35	40	45	
Gly	Asp	Ser	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	50	55	60	
Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Thr	Gln	Ala	Glu	65	70	75	80

ES 2 711 498 T3

	65		70		75		80											
	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Thr	Tyr	Thr	Gly	Gly	Ala	Ser	Leu		
				85					90						95			
	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln					
			100						105									
5	<210>	14																
	<211>	10																
	<212>	PRT																
	<213>	secuencia artificial																
10	<220>																	
	<223>	HCDR1-1 - cadena VH																
	<400>	14																
			Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Met	Asn						
			1				5					10						
15	<210>	15																
	<211>	5																
	<212>	PRT																
	<213>	secuencia artificial																
20	<220>																	
	<223>	HCDR1-2 - cadena VH																
	<400>	15																
					Ser	Tyr	Tyr	Met	Asn									
					1				5									
25	<210>	16																
	<211>	17																
	<212>	PRT																
30	<213>	secuencia artificial																
	<220>																	
	<223>	HCDR2 - cadena VH																
35	<400>	16																
			Gly	Ile	Ser	Gly	Asp	Pro	Ser	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
			1				5					10					15	
			Gly															
40	<210>	17																
	<211>	11																
	<212>	PRT																
	<213>	secuencia artificial																
45	<220>																	
	<223>	HCDR3 - cadena VH																
	<400>	17																
			Asp	Leu	Pro	Leu	Val	Tyr	Thr	Gly	Phe	Ala	Tyr					
			1				5					10						
50																		

ES 2 711 498 T3

<210> 18
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> HCDR4 - cadena VH
 <400> 18
 10
 Asp Tyr Trp Met Gln
 1 5
 <210> 19
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> HCDR5 - cadena VH
 20
 <400> 19
 Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 25
 <210> 20
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> HCDR6 - cadena VH
 <400> 20
 35
 Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> LCDR1 - cadena VH
 45
 <400> 21
 Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val Tyr
 1 5 10
 50
 <210> 22
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> LCDR2 - cadena VH
 <400> 22
 60
 Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser
 1 5

<210> 23
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> LCDR3 - cadena VH
 <400> 23
 10
 Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu
 1 5
 <210> 24
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> LCDR4 - cadena VH
 20
 <400> 24
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val Val Ala
 1 5 10
 <210> 25
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> LCDR5 - cadena VH
 30
 <400> 25
 Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ile
 1 5
 <210> 26
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> LCDR6 - cadena VH
 45
 <400> 26
 Gln Gln His Ser Pro Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 27
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> CD8 y n.º 945;-Péptido de señalización (PS)
 55
 <400> 27

ES 2 711 498 T3

	Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	
	1				5					10					15		
	His Ala Ala Arg Pro																
	20																
5	<210> 28																
	<211> 15																
	<212> PRT																
	<213> secuencia artificial																
	<220>																
10	<223> Enlazador GS																
	<400> 28																
	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
	1				5					10					15		
15	<210> 29																
	<211> 16																
	<212> PRT																
	<213> homo sapiens																
20	<220>																
	<223> FCR11 y n.º 945; bisagra																
	<400> 29																
25	Gly	Leu	Ala	Val	Ser	Thr	Ile	Ser	Ser	Phe	Phe	Pro	Pro	Gly	Tyr	Gln	
	1				5					10					15		
	<210> 30																
	<211> 69																
	<212> PRT																
30	<213> homo sapiens																
	<220>																
	<223> CD8 y n.º 945; bisagra																
35	<400> 30																
	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	Ile	Tyr	Ile	
			35					40					45				
	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	
		50					55					60					
	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys												
	65																
40	<210> 31																
	<211> 231																

ES 2 711 498 T3

<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<223> bisagra de IgG1

5

<400> 31

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	100	105	110	

ES 2 711 498 T3

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
225 230

<210> 32
<211> 24
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<223> dominio TM
<400> 32

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 33
<211> 42
<212> PRT
<213> homo sapiens

<220>
<223> dominio 4-1 BB coestimulador
<400> 33

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15

ES 2 711 498 T3

		Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe
					20					25					30		
		Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu						
			35						40								
5		<210>	34														
		<211>	112														
		<212>	PRT														
		<213>	homo sapiens														
		<220>															
10		<223>	CD3 y n.º 950; dominio de activación														
		<400>	34														
		Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly
		1				5					10					15	
		Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr
					20					25					30		
		Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys
				35					40					45			
		Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys
			50				55						60				
		Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg
		65					70					75					80
		Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala
						85					90					95	
		Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg
					100					105					110		
15		<210>	35														
		<211>	442														
		<212>	PRT														
		<213>	secuencia artificial														
		<220>															
20		<223>	GMB005-V1 CAR														
		<400>	35														
		Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	His	Ala	Ala	Arg	Pro	Glu	Val	Gln	Leu	Leu
25		1				5					10					15	

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

260

265

270

Gln Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
275 280 285

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
290 295 300

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
305 310 315 320

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
325 330 335

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
340 345 350

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
355 360 365

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
370 375 380

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
405 410 415

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
420 425 430

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
435 440

<210> 36

<211> 471

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> GMB005-V2 CAR

<400> 36

Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Leu
1 5 10 15

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
20 25 30

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

275

280

285

Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
290 295 300

Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
305 310 315 320

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
325 330 335

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
340 345 350

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
355 360 365

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
370 375 380

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
385 390 395 400

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
405 410 415

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
420 425 430

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
435 440 445

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
450 455 460

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470

<210> 37
<211> 657
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> GMB005-V3 CAR

<400> 37

Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Leu
1 5 10 15

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

260					265					270					
Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
		275					280					285			
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	290					295					300				
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
305					310					315					320
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
				325					330					335	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
			340					345					350		
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
		355					360					365			
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
	370					375					380				
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr
385					390					395					400
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
				405					410					415	
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
			420					425					430		
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
			435				440					445			
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
	450					455					460				
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
465					470					475					480
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala
				485					490					495	
Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys
			500					505					510		

ES 2 711 498 T3

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
515 520 525

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
530 535 540

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
545 550 555 560

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
565 570 575

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
580 585 590

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
595 600 605

Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
610 615 620

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
625 630 635 640

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
645 650 655

Ala

<210> 38
<211> 119
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> Luc63-cadena VH

<400> 38

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu
50 55 60

ES 2 711 498 T3

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

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

Ala Arg Pro Asp Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 39
<211> 107
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> Luc63-cadena VL
<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

<210> 40
<211> 120
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> Luc90-cadena VH
<400> 40

ES 2 711 498 T3

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Thr Met Ile Ala Thr Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 41
<211> 107
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> Luc90-cadena VL

<400> 41

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

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

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

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

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

ES 2 711 498 T3

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 42
<211> 121
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> Luc34-cadena VH

<400> 42

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Lys Val Tyr Tyr Gly Ser Asn Pro Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 43
<211> 107
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> Luc34-cadena VL

<400> 43

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Ser Ser Tyr Leu Ser Val Ser Leu Gly

ES 2 711 498 T3

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

<210> 44
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> mus musculus

<220>
 <223> LucX1-cadena VH
 <400> 44

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

ES 2 711 498 T3

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 45
<211> 107
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> LucX1-cadena VL
<400> 45

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

Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

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

Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 46
<211> 120
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> LucX2-cadena VH
<400> 46

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Ser
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

ES 2 711 498 T3

35

40

45

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

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

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

Ala Arg Ser Thr Met Ile Ala Thr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 47
<211> 108
<212> PRT
<213> mus musculus

<220>
<223> LucX2-cadena VL

<400> 47

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

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

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

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

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

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

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

<210> 48
<211> 432
<212> PRT

ES 2 711 498 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Luc63-V1 CAR

5

<400> 48

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

ES 2 711 498 T3

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

<210> 49
 <211> 485
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> Luc63-V2 CAR

<400> 49

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
 260 265 270
 Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
 275 280 285
 Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
 290 295 300
 Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
 305 310 315 320
 Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
 325 330 335
 Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
 340 345 350
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
 355 360 365
 Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
 370 375 380
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
 385 390 395 400
 Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
 405 410 415
 Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
 420 425 430
 Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
 435 440 445
 Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
 450 455 460
 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
 465 470 475 480
 Ala Leu Pro Pro Arg
 485

<210> 50
 <211> 647
 <212> PRT

ES 2 711 498 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Luc63-V3 CAR

5

<400> 50

```

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1          5          10          15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20          25          30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
 35          40          45

Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50          55          60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn
 65          70          75          80

Tyr Thr Pro Ser Leu Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85          90          95

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr
100          105          110

Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Arg Pro Asp Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp
115          120          125

Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130          135          140

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

Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile
165          170          175

Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Ile Ala Val Ala Trp Tyr Gln
180          185          190

Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr
195          200          205

Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr
210          215          220

```

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

465		470		475		480									
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	Gly
				485					490					495	
Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val
			500					505					510		
Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu
			515				520					525			
Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp
	530					535					540				
Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn
545					550					555					560
Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg
				565					570					575	
Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly
			580					585					590		
Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu
		595					600					605			
Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu
	610					615					620				
Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His
625					630					635					640
Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg									
				645											

<210> 51
 <211> 433
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> Luc90-V1 CAR

<400> 51

Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu
1				5					10					15	
His	Ala	Ala	Arg	Pro	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Pro	Gly	Ala	Glu	Leu
			20					25					30		

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

275	280	285
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu 290 295 300		
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu 305 310 315 320		
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln 325 330 335		
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu 340 345 350		
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly 355 360 365		
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln 370 375 380		
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu 385 390 395 400		
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr 405 410 415		
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro 420 425 430		

Arg

<210> 52
 <211> 486
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> Luc90-V2 CAR

<400> 52

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu 1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu 20 25 30
Val Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr 35 40 45

ES 2 711 498 T3

Ser Phe Thr Thr Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
 50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg
 65 70 75 80

Leu Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser
 85 90 95

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Ala Thr Arg Ala Met
 115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 130 135 140

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

Thr Gln Ser Gln Lys Ser Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser
 165 170 175

Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ile Thr Gly Val Ala Trp Tyr
 180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser
 195 200 205

Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly
 210 215 220

Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Asn Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala
 225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Ala
 245 250 255

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
 260 265 270

Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
 275 280 285

Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp

ES 2 711 498 T3

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

<210> 53
 <211> 648
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> Luc90-V3 CAR

<400> 53

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

			260				265				270				
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
		275				280						285			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Thr	Pro
		290				295				300					
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
		305		310						315				320	
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
				325				330						335	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
		340						345				350			
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
		355				360						365			
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
		370				375				380					
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
		385		390						395				400	
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
				405				410						415	
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
		420						425				430			
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
		435				440						445			
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
		450				455				460					
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
		465		470						475				480	
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
				485				490						495	
Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro
		500						505				510			

ES 2 711 498 T3

Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
515 520 525

Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
530 535 540

Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
545 550 555 560

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
565 570 575

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
580 585 590

Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
595 600 605

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
610 615 620

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
625 630 635 640

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
645

<210> 54
<211> 434
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Luc34-V1 CAR

<400> 54

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu
20 25 30

Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg

ES 2 711 498 T3

65				70				75				80			
Tyr	Thr	Gln	Lys	Phe 85	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys 95	Ser
Ser	Ser	Thr	Ala 100	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser 105	Ser	Leu	Ala	Ser	Glu 110	Asp	Ser
Ala	Val	Tyr 115	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly 120	Lys	Val	Tyr	Tyr	Gly 125	Ser	Asn	Pro
Phe	Ala 130	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly 135	Thr	Leu	Val	Thr	Val 140	Ser	Ala	Gly	Gly
Gly 145	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly 150	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly 155	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln 160
Met	Thr	Gln	Ser	Ser 165	Ser	Tyr	Leu	Ser 170	Val	Ser	Leu	Gly	Gly	Arg 175	Val
Thr	Ile	Thr	Cys 180	Lys	Ala	Ser	Asp	His 185	Ile	Asn	Asn	Trp	Leu 190	Ala	Trp
Tyr	Gln	Gln 195	Lys	Pro	Gly	Asn	Ala 200	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile 205	Ser	Gly	Ala
Thr	Ser 210	Leu	Glu	Thr	Gly	Val 215	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser 220	Gly	Ser	Gly	Ser
Gly 225	Lys	Asp	Tyr	Thr	Leu 230	Ser	Ile	Thr	Ser	Leu 235	Gln	Thr	Glu	Asp	Val 240
Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys 245	Gln	Gln	Tyr	Trp	Ser 250	Thr	Pro	Trp	Thr	Phe 255	Gly
Gly	Gly	Thr	Lys 260	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly 265	Leu	Ala	Val	Ser	Thr 270	Ile	Ser
Ser	Phe	Phe 275	Pro	Pro	Gly	Tyr	Gln 280	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys 285	Lys	Leu	Leu
Tyr	Ile 290	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe 295	Met	Arg	Pro	Val	Gln 300	Thr	Thr	Gln	Glu
Glu 305	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys 310	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu 315	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys 320

ES 2 711 498 T3

Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
325 330 335

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
340 345 350

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
355 360 365

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
370 375 380

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
385 390 395 400

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
405 410 415

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
420 425 430

Pro Arg

<210> 55
<211> 487
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Luc34-V2 CAR

<400> 55

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu
20 25 30

Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg
65 70 75 80

Tyr Thr Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser

ES 2 711 498 T3

85								90				95			
Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Ala	Ser	Glu	Asp	Ser
			100					105					110		
Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Lys	Val	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Asn	Pro
		115					120					125			
Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala	Gly	Gly
	130					135					140				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln
145					150					155					160
Met	Thr	Gln	Ser	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Val	Ser	Leu	Gly	Gly	Arg	Val
				165					170					175	
Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Asp	His	Ile	Asn	Asn	Trp	Leu	Ala	Trp
			180					185					190		
Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Asn	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Ser	Gly	Ala
		195					200					205			
Thr	Ser	Leu	Glu	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser
	210					215					220				
Gly	Lys	Asp	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ile	Thr	Ser	Leu	Gln	Thr	Glu	Asp	Val
225					230					235					240
Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Trp	Ser	Thr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly
				245					250					255	
Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro
			260					265					270		
Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro
		275					280					285			
Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu
	290					295					300				
Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys
305					310					315					320
Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly
				325					330					335	

ES 2 711 498 T3

Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
340 345 350

Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
355 360 365

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
370 375 380

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
385 390 395 400

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
405 410 415

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
420 425 430

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
435 440 445

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
450 455 460

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
465 470 475 480

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 56
<211> 649
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Luc34-V3 CAR

<400> 56

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu
20 25 30

Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	305	310	315	320
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	325	330	335	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	340	345	350	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	355	360	365	
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	370	375	380	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	385	390	395	400
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	405	410	415	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	420	425	430	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	435	440	445	
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	450	455	460	
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	465	470	475	480
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	485	490	495	
Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	500	505	510	
Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	515	520	525	
Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	530	535	540	
Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	545	550	555	560

ES 2 711 498 T3

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
565 570 575

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
580 585 590

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
595 600 605

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
610 615 620

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
625 630 635 640

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
645

<210> 57
<211> 433
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> LucX1-V1 CAR

<400> 57

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
20 25 30

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

Ala Phe Ser Ser Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys
65 70 75 80

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

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser
100 105 110

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
370 375 380

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
385 390 395 400

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
405 410 415

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
420 425 430

Arg

<210> 58
<211> 487
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> LucX1-V2 CAR

<400> 58

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu
20 25 30

Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg
65 70 75 80

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

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Lys Val Tyr Tyr Gly Ser Asn Pro
115 120 125

ES 2 711 498 T3

Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala	Gly	Gly		
130						135					140						
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln		
145					150					155					160		
Met	Thr	Gln	Ser	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Val	Ser	Leu	Gly	Gly	Arg	Val		
			165						170					175			
Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Asp	His	Ile	Asn	Asn	Trp	Leu	Ala	Trp		
			180					185					190				
Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Asn	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Ser	Gly	Ala		
	195					200						205					
Thr	Ser	Leu	Glu	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser		
	210					215					220						
Gly	Lys	Asp	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ile	Thr	Ser	Leu	Gln	Thr	Glu	Asp	Val		
225					230					235					240		
Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Trp	Ser	Thr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly		
				245					250					255			
Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro		
			260					265					270				
Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro		
		275					280					285					
Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu		
290						295					300						
Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys		
305					310				315						320		
Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly		
				325					330					335			
Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val		
			340					345					350				
Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu		
		355					360					365					
Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp		
370						375					380						

ES 2 711 498 T3

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
385 390 395 400

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
405 410 415

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
420 425 430

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
435 440 445

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
450 455 460

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
465 470 475 480

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 59

<211> 648

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> LucX1-V3 CAR

<400> 59

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
20 25 30

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

Ala Phe Ser Ser Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys
65 70 75 80

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

ES 2 711 498 T3

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser
 100 105 110

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Ala Thr Gly Ala Met
 115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Thr Thr Val
 145 150 155 160

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

Ile Arg Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn Trp Tyr
 180 185 190

Gln Gln Lys Pro Gly Glu Pro Pro Lys Leu Leu Ile Ser Glu Gly Asn
 195 200 205

Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser Ser Gly Tyr Gly
 210 215 220

Thr Asp Phe Val Phe Thr Ile Glu Asn Met Leu Ser Glu Asp Val Ala
 225 230 235 240

Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly
 245 250 255

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His
 260 265 270

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 275 280 285

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro
 290 295 300

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 305 310 315 320

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 325 330 335

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 340 345 350

ES 2 711 498 T3

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
355 360 365

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
370 375 380

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
385 390 395 400

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
405 410 415

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
420 425 430

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
435 440 445

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
450 455 460

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
465 470 475 480

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Arg
485 490 495

Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
500 505 510

Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
515 520 525

Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
530 535 540

Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
545 550 555 560

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
565 570 575

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
580 585 590

Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
595 600 605

ES 2 711 498 T3

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
610 615 620

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
625 630 635 640

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
645

<210> 60
<211> 434
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> LucX2-V1 CAR

<400> 60

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
20 25 30

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

Ala Phe Ser Ser Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys
65 70 75 80

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

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser
100 105 110

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Ala Thr Gly Ala Met
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140

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

ES 2 711 498 T3

Thr	Gln	Ser	His	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Ser	
				165					170					175		
Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Thr	Ala	Val	Ala	Trp	Tyr	
			180					185					190			
Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	Ala	Ser	
		195					200					205				
Tyr	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	
	210					215					220					
Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	
225					230					235					240	
Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Ser	Thr	Pro	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	
				245					250					255		
Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Gly	Leu	Ala	Val	Ser	Thr	Ile	Ser	
			260					265					270			
Ser	Phe	Phe	Pro	Pro	Gly	Tyr	Gln	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	
		275					280					285				
Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	
	290					295					300					
Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	
305					310					315					320	
Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	
				325					330					335		
Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	
			340					345					350			
Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	
		355					360					365				
Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	
	370					375					380					
Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	
385					390					395					400	
Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	
				405					410					415		

ES 2 711 498 T3

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
420 425 430

Pro Arg

5 <210> 61
<211> 487
<212> PRT
<213> secuencia artificial

10 <220>
<223> LucX2-V2 CAR

<400> 61

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
20 25 30

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

Ala Phe Ser Ser Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys
65 70 75 80

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

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser
100 105 110

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Ala Thr Gly Ala Met
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140

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

Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser
165 170 175

ES 2 711 498 T3

Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Ser	Thr	Ala	Val	Ala	Trp	Tyr	180	185	190
Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	Ala	Ser	195	200	205
Tyr	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	210	215	220
Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	225	230	235
Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Ser	Thr	Pro	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	245	250	255
Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	260	265	270
Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	275	280	285
Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	290	295	300
Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	305	310	315
Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	325	330	335
Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	340	345	350
Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	355	360	365
Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	370	375	380
Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	385	390	395
Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	405	410	415
Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	420	425	430

ES 2 711 498 T3

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
435 440 445

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
450 455 460

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
465 470 475 480

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 62
<211> 649
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> LucX2-V3 CAR

<400> 62

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu
20 25 30

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

Ala Phe Ser Ser Ser Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Lys
65 70 75 80

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

Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser
100 105 110

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Thr Met Ile Ala Thr Gly Ala Met
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 405 410 415
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 420 425 430
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 435 440 445
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 450 455 460
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 465 470 475 480
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys
 485 490 495
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 500 505 510
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 515 520 525
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 530 535 540
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 545 550 555 560
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 565 570 575
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 580 585 590
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 595 600 605
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 610 615 620
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 625 630 635 640
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 645

5	<210> 64 <211> 17 <212> ADN <213> secuencia artificial	
10	<220> <223> CS1 T01 izquierda TALE <400> 64 tgacttccag agagcaa	17
15	<210> 65 <211> 17 <212> ADN <213> secuencia artificial	
20	<220> <223> CS1 T01 derecha TALE <400> 65 aacatgcctc accctca	17
25	<210> 66 <211> 49 <212> ADN <213> homo sapiens	
30	<220> <223> CS1 T02 diana <400> 66 ttccagagag caatatgggt ggttccccaa catgcctcac cctcatcta	49
35	<210> 67 <211> 17 <212> ADN <213> secuencia artificial	
40	<220> <223> CS1 T02 izquierda TALE <400> 67 ttccagagag caatatg	17
45	<210> 68 <211> 17 <212> ADN <213> secuencia artificial	
50	<220> <223> CS1 T02 derecha TALE <400> 68 tgcttcaccc tcatcta	17
55	<210> 69 <211> 49 <212> ADN	

	<213> homo sapiens	
	<220>	
	<223> CS1 T03 diana	
5	<400> 69	
	ttgactctat tgtctggacc ttcaacacaa cccctcttgt caccataca	49
10	<210> 70	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> CS1 T03 izquierda TALE	
	<400> 70	
20	ttgactctat tgtctgg	17
	<210> 71	
	<211> 17	
	<212> ADN	
25	<213> secuencia artificial	
	<220>	
	<223> CS1 T03 derecha TALE	
30	<400> 71	
	cctcttgtca ccataca	17
	<210> 72	
35	<211> 49	
	<212> ADN	
	<213> homo sapiens	
	<220>	
40	<223> CD70 diana 1	
	<400> 72	
	tggctcttttc ttccagtggg acgtagctga gctgcagctg aatcacaca	49
45	<210> 73	
	<211> 17	
	<212> ADN	
	<213> secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> CD70 Diana 1-izquierda TALE	
	<400> 73	
55	tggctcttttc ttccagt	17
	<210> 74	
	<211> 17	
60	<212> ADN	
	<213> secuencia artificial	
	<220>	
	<223> CD70 Diana 1-derecha TALE	
65	<400> 74	

	tgcagctgaa tcacaca	17
5	<210> 75 <211> 49 <212> ADN <213> homo sapiens	
10	<220> <223> CD70 diana 2 <400> 75	
15	tggtgatctg cctcgtggtg tgcattccagc gcttcgcaca ggctcagca	49
20	<210> 76 <211> 17 <212> ADN <213> secuencia artificial	
25	<220> <223> CD70 Diana 2-izquierda TALE <400> 76	
	tggtgatctg cctcgtg	17
30	<210> 77 <211> 17 <212> ADN <213> secuencia artificial	
35	<220> <223> CD70 Diana 2-derecha TALE <400> 77	
	ttcgcacagg ctcagca	17
40	<210> 78 <211> 57 <212> ADN <213> homo sapiens	
45	<220> <223> CD70 diana 3 <400> 78	
50	tgcgggctgc tttggtccca ttggtcgcgg gcttggtgat ctgcctcgtg gtgtgca	57
55	<210> 79 <211> 17 <212> ADN <213> secuencia artificial	
60	<220> <223> CD70 Diana 3-izquierda TALE <400> 79	
	tgcgggctgc tttggtc	17
65	<210> 80 <211> 17 <212> ADN	

<213> secuencia artificial

<220>

<223> CD70 Diana 3-derecha TALE

5 <400> 80

ctgcctcgtg gtgtgca 17

10 <210> 81
<211> 122
<212> PRT
<213> secuencia artificial

15 <220>
<223> Ab4 dirigido contra CD70-cadena VH

<400> 81

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

20

25 <210> 82
<211> 1358
<212> ADN
<213> secuencia artificial

30 <220>
<223> Ab4 dirigido contra CD70-cadena VH

<400> 82

```

aggtgcagct ggtggagtct gggggaggcg tgggtccagcc tgggaggtcc ctgagactct      60
cctgtgcagc gtctggattc accttcagta actatggcat aactgggtc cgccaggctc      120
caggcaaggg gctggagtgg gtggcagtta tatggtatga tggagtaaat aaatactatg      180
cagactccgt gaagggccga ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac acgctgtatc      240
tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggctgtgta ttactgtgcg agagatggag      300
gatatagtgg ctacgattcg gggtttgact actggggcca ggggaaccctg gtcaccgtct      360
cctcagctag caccaagggc ccatccgtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct      420
ctggggggcac agcgggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg      480
tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggtc gtcctacagt      540
cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggacacc      600
agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagtgt      660
agcccaaata ttgtgacaaa actcacacat gccacccgtg cccagcacct gaactcctgg      720
ggggaccgtc agtcttcctc tccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga      780
cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca      840
actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaaagc aaagccgcgg gaggagcagt      900
acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg      960
gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca     1020
tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg     1080
aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg     1140
acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc     1200
ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctatagcaa gtcaccgtg gacaagagca     1260
ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact     1320
acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatga                               1358

```

<210> 83

<211> 112

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Ab4 dirigido contra CD70-cadena VL

<400> 83

```

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

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

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

Pro Gln Phe Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro
50               55               60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ile Gln Thr
85               90               95

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

```

<210> 84

<211> 1476

<212> ADN

ES 2 711 498 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Ab4 dirigido contra CD70-cadena VL

5

<400> 84

gatattgtga	tgactcagtc	tccactctcc	ctgcccgtca	cccctggaga	gccggcctcc	60
atctcctgca	ggtctagtca	gagcctcctg	aatagtaatg	gatacaacta	tttggattgg	120
tacctgcaga	agccagggca	gtctccacag	ttcctgatct	atttgggttc	ttatcgggcc	180
tccgggggtcc	ctgacagggt	cagtggcagt	ggatcaggca	cagattttac	actgagaatc	240
agcagagtgg	aggctgagga	tgttgggggt	tattactgta	tacaaactct	acaaactcca	300
ttcactttcg	gccctgggac	caaagtggat	atcaaacgta	cggtggctgc	accatctgtc	360
ttcatcttcc	cgccatctga	tgagcagttg	aaatctggaa	ctgcctctgt	tgtgtgcctg	420
ctgaataaact	tctatcccag	agaggccaaa	gtacagtggg	aggtggataa	cgccctccaa	480
tccgggtaact	cccaggagag	tgtcacagag	caggacagca	aggacagcac	ctacagcctc	540
agcagcacc	tgacgctgag	caaagcagac	tacgagaaac	acaaagtcta	cgctgcgaa	600
gtcaccatc	agggcctgag	ctcgcccgtc	acaaagagct	tcaacagggg	agagtgttag	660
tcctcaggac	tctactccct	cagcagcgtg	gtgaccgtgc	cctccagcag	cttgggcacc	720
cagacctaca	tctgcaacgt	gaatcacaag	cccagcaaca	ccaaggtgga	caagaaagt	780
gagcccaaact	cttgtgacaa	aactcacaca	tgcccaccgt	gcccagcacc	tgaactcctg	840
gggggaccgt	cagtcttctc	cttcccccca	aaaccctaag	acaccctcat	gatctcccgg	900
acccctgagg	tcacatgcgt	ggtggtggac	gtgagccacg	aagaccctga	ggtcaagtcc	960
aactggtacg	tggacggcgt	ggaggtgcat	aatgccaaag	caaagccgcg	ggaggagcag	1020
tacaacagca	cgtaccgtgt	ggtcagcgtc	ctcaccgtcc	tgaccaggga	ctggctgaat	1080
ggcaaggagt	acaagtgcaa	ggtctccaac	aaagccctcc	cagcccccat	cgagaaaacc	1140
atctccaaag	ccaaagggca	gccccgagaa	ccacaggtgt	acaccctgcc	cccaccccg	1200
gaggagatga	ccaagaacca	ggtcagcctg	acctgcctgg	tcaaaggctt	ctatcccagc	1260
gacatcgccg	tggagtggga	gagcaatggg	cagccggaga	acaactacaa	gaccacgcct	1320
cccgtgctgg	actccgacgg	ctccttcttc	ctctatagca	agctcaccgt	ggacaagagc	1380
aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tccgtgatgc	atgaggctct	gcacaaccac	1440
tacacgcaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtaaa			1476

10

<210> 85

<211> 122

<212> PRT

<213> secuencia artificial

15

<220>

<223> Ab8 dirigido contra CD70-cadena VH

<400> 85

ES 2 711 498 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gly Ile Ala Gly Ala Arg Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 86

<211> 560

<212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Ab8 dirigido contra CD70-cadena VH

<400> 86

caggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	gtggtccagc	ctgggaggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cgtctggatt	caccttcagt	agctatggca	tgcaactgggt	ccgccaggct	120
ccaggcaagg	ggctggagtg	ggtggcagtt	atatggtatg	atggaagtga	taaatacttt	180
gcagactccg	tgaagggccg	attcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcaaata	acagcctgag	agccgaggac	acggctgtgt	attactgtgc	gagagatggg	300
atagcaggag	ctcgctacgt	ctactttgac	tactggggcc	agggaaacct	ggtcaccgtc	360
tcctcagcta	gcaccaaggg	cccatccgtc	ttccccctgg	caccctcctc	caagagcacc	420
tctgggggca	cagcggccct	gggctgcctg	gtcaaggact	acttccccga	accggtgacg	480
gtgtcgtgga	actcaggcgc	cctgaccagc	ggcgtgcaca	ccttcccggc	tgtcctacag	540
tcctcaggac	tctactccct					560

<210> 87

<211> 107

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Ab8 dirigido contra CD70-cadena VL

<400> 87

ES 2 711 498 T3

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

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

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 88

<211> 645

<212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Ab8 dirigido contra CD70-cadena VL

<400> 88

gacatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc	60
atcacttgtc	gggcgagtc	gggcattagc	aattatntag	cctggtttca	gcagaaacca	120
gggaaagccc	ctaagtcctt	gatctatgct	gcatccagtt	tgcaaggtgg	ggtcccatca	180
aagttcagcg	gcagtggatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	cctgcagcct	240
gaagattttg	caacttatta	ctgccaacaa	tattataatt	acccattcac	tttcggccct	300
gggaccacag	tgatatacaa	acgtacgggtg	gctgcaccat	ctgtcttcat	cttcccgcga	360
tctgatgagc	agttgaaatc	tggaactgcc	tctgttgtgt	gcctgctgaa	taacttctat	420
cccagagagg	ccaaagtaca	gtggaagggtg	gataacgccc	tccaatcggg	taactcccag	480
gagagtgtca	cagagcagga	cagcaaggac	agcacctaca	gcctcagcag	caccctgacg	540
ctgagcaaag	cagactacga	gaaacacaaa	gtctacgcct	gcgaagtcac	ccatcagggc	600
ctgagctcgc	ccgtcacaaa	gagcttcaac	aggggagagt	gtag		645

<210> 89

<211> 117

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> 1F6 dirigido contra CD70-cadena VH

<400> 89

ES 2 711 498 T3

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

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

Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 90
<211> 411
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> 1F6 dirigido contra CD70-cadena VH

<400> 90

atggccttggg	tgtggacctt	gctattcctg	atggcagctg	cccaaagtgc	ccaagcacag	60
atccagttgg	tgcagtctgg	acctgaggtg	aagaagcctg	gagagacagt	caagatctcc	120
tgcaaggctt	ctgggtatac	cttcacaaac	tatggaatga	actgggtgaa	gcaggctcca	180
ggaaagggtt	taaagtggat	gggctggata	aacacctaca	ctggagagcc	aacatatgct	240
gatgccttca	agggacgggt	tgccttctct	ttggaaacct	ctgccagcac	tgcctatttg	300
cagatcaaca	acctcaaaaa	tgaggacacg	gctacatatt	tctgtgcaag	agactacggc	360
gactatggta	tggactactg	gggtcaagga	acctcagtca	ccgtctcctc	a	411

<210> 91
<211> 112
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> 1F6 dirigido contra CD70-cadena VL

<400> 91

ES 2 711 498 T3

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

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

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 92

<211> 396

5 <212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

<223> 1F6 dirigido contra CD70-cadena VL

10

<400> 92

atggagacag	acacactcct	ggtatgggta	ctgctgctct	gggttccagg	ttccactggg	60
gacattgtgc	tgacacagtc	tcctgcttcc	ttagctgtat	ctctggggca	gagggccacc	120
atctcatgca	gggccagcaa	aagtgtcagt	acatctggct	atagttttat	gcactgggat	180
caacagaaac	caggacagcc	acccaaactc	ctcatctatc	ttgcatccaa	cctagaatct	240
ggggtccttg	ccaggttcag	tggcagtggt	tctgggacag	acttcaccct	caacatccat	300
cctgtggagg	aggaggatgc	tgcaacctat	tactgtcagc	acagtaggga	ggttccgtgg	360
acgttcggtg	gaggcaccaa	gctggaaatc	aaacgg			396

<210> 93

<211> 464

<212> PRT

<213> secuencia artificial

20

<220>

<223> Ab4 dirigido contra CD70-V1 CAR

<400> 93

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

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

Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Gly Leu
260 265 270

Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln Ile Tyr
275 280 285

Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
290 295 300

Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
305 310 315 320

Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
325 330 335

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
340 345 350

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
355 360 365

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
370 375 380

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
385 390 395 400

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
405 410 415

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
420 425 430

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
435 440 445

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455 460

<210> 94
<211> 493
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Ab4 dirigido contra CD70-V2 CAR

ES 2 711 498 T3

<400> 94

```

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1          5          10          15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
20          25          30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35          40          45

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

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr
65          70          75          80

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

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100         105         110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Ser
115         120         125

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asn Gly
180         185         190

Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln
195         200         205

Phe Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg
210         215         220

```

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

465 470 475 480

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 95
<211> 584
<212> PRT
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Ab4 dirigido contra CD70-V3 CAR

<400> 95

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

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

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr
65 70 75 80

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

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Ser
115 120 125

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asn Gly
180 185 190

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

435

440

445

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
450 455 460

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
465 470 475 480

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
485 490 495

Leu Ser Pro Gly Lys Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
500 505 510

Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
515 520 525

Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
530 535 540

Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
545 550 555 560

Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
565 570 575

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
580

<210> 96

<211> 459

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Ab8 dirigido contra CD70-V1 CAR

<400> 96

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

305		310		315		320									
Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg
				325					330					335	
Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser
			340					345					350		
Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr
		355					360					365			
Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys
	370					375					380				
Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn
385					390					395					400
Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu
				405					410					415	
Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly
			420					425					430		
His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr
		435					440					445			
Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg					
	450					455									

<210> 97

<211> 488

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Ab8 dirigido contra CD70-V2 CAR

<400> 97

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

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

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

<210> 98
 <211> 674
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> Ab8 dirigido contra CD70-V3 CAR

<400> 98

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu	1	5	10	15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val	20	25	30	

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

275		280		285
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg	290	295	300	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro	305	310	315	320
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala	325	330	335	
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val	340	345	350	
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr	355	360	365	
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr	370	375	380	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu	385	390	395	400
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys	405	410	415	
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser	420	425	430	
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp	435	440	445	
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser	450	455	460	
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala	465	470	475	480
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	485	490	495	
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu	500	505	510	
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu	515	520	525	

ES 2 711 498 T3

Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
530 535 540

Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
545 550 555 560

Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
565 570 575

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
580 585 590

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
595 600 605

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
610 615 620

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
625 630 635 640

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
645 650 655

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
660 665 670

Pro Arg

<210> 99

<211> 459

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> 1F6 dirigido contra CD70-V1 CAR

<400> 99

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys

ES 2 711 498 T3

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

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
305 310 315 320

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
325 330 335

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
340 345 350

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
355 360 365

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
370 375 380

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
385 390 395 400

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
405 410 415

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
420 425 430

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
435 440 445

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455

<210> 100

<211> 488

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> 1F6 dirigido contra CD70-V2 CAR

<400> 100

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val
20 25 30

Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
35 40 45

Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
305 310 315 320

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
325 330 335

Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
340 345 350

Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
355 360 365

Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
370 375 380

Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
385 390 395 400

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
405 410 415

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
420 425 430

Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
435 440 445

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
450 455 460

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
465 470 475 480

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 101

<211> 674

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> 1F6 dirigido contra CD70-V3 CAR

<400> 101

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val

ES 2 711 498 T3

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

ES 2 711 498 T3

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 275 280 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg
 290 295 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 305 310 315 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 325 330 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 340 345 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 355 360 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 370 375 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 385 390 395 400

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 405 410 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 420 425 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 435 440 445

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 485 490 495

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
 500 505 510

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 515 520 525

ES 2 711 498 T3

Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
530 535 540

Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
545 550 555 560

Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
565 570 575

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
580 585 590

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
595 600 605

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
610 615 620

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
625 630 635 640

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
645 650 655

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
660 665 670

Pro Arg

REIVINDICACIONES

1. Un método ex vivo para preparar linfocitos T para inmunoterapia contra células patológicas que comprende la etapa de:
 - (a) Inactivar genéticamente un gen en un linfocito T, que está implicado en la expresión o presentación de un marcador antigénico, estando presente dicho marcador antigénico sobre la superficie de dicho linfocito T y la célula patológica;
 - (b) Expresar en dicho linfocitos T un transgén que codifica un receptor de antígeno quimérico dirigido contra dicho marcador antigénico presente en la superficie de dicha célula patológica.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa a) se lleva a cabo utilizando una nucleasa de corte raro.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en el que dicha endonucleasa se expresa a partir de ARNm transfectado.
4. El método de acuerdo una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho método incluye una etapa adicional de inactivar un gen que codifica un componente del receptor de linfocitos T (TCR).
5. El método de acuerdo una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho método incluye una etapa adicional de inactivar un gen que codifica un componente de HLA.
6. El método de acuerdo una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho método incluye una etapa adicional de inactivar un gen que codifica $\beta 2m$.
7. El método de acuerdo una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho método incluye una etapa adicional de inactivar un gen que codifica una proteína checkpoint inmunitaria seleccionada entre CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22, PDCD1, LAG3, HAVCR2, BTLA, CD160, TIGIT, CD96, CRTAM, LAIR1, SIGLEC7, SIGLEC9, CD244, TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7, FADD, FAS, TGFBRII, TGFRBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1, IL10RA, IL10RB, HMOX2, IL6R, IL6ST, EIF2AK4, CSK, PAG1, SIT1, FOXP3, PRDM1, BATF, GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2 y GUCY1B3.
8. El método de acuerdo una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho método incluye una etapa adicional de inactivar un gen que confiere sensibilidad de las células inmunitarias a los fármacos quimioterapéuticos o inmunosupresores.
9. El método de acuerdo una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicho linfocito T en la etapa a) se deriva de un linfocito T inflamatorio, un linfocito T citotóxico, un linfocito T regulador o un linfocito T auxiliar.
10. Un linfocito T diseñado mediante ingeniería genética obtenible de acuerdo con el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque un gen implicado en la expresión o presentación de un marcador antigénico, que está presente tanto en la superficie de dicho linfocito T como en la de una célula patológica, está genéticamente inactivado dando como resultado por tanto la ausencia de dicho marcador antigénico en la superficie de dicho linfocito T; y caracterizado además porque dicho linfocito T expresa un receptor de antígeno quimérico dirigido contra dicho marcador antigénico presente en la superficie de dicha célula patológica.
11. El linfocito T diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 10 que da como resultado el fenotipo [CAR CD38]⁺[CD38]⁻.
12. El linfocito T diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 10 que da como resultado el fenotipo [CAR CD70]⁺[CD70]⁻.
13. El linfocito T diseñado mediante ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 10 que da como resultado el fenotipo [CAR CS1]⁺[CS1]⁻.
14. Una población de linfocitos T diseñados mediante ingeniería genética de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13 para su uso en el tratamiento de un paciente al que se le ha diagnosticado la presencia de células patológicas que presentan marcadores antigénicos específicos en común con los linfocitos T.

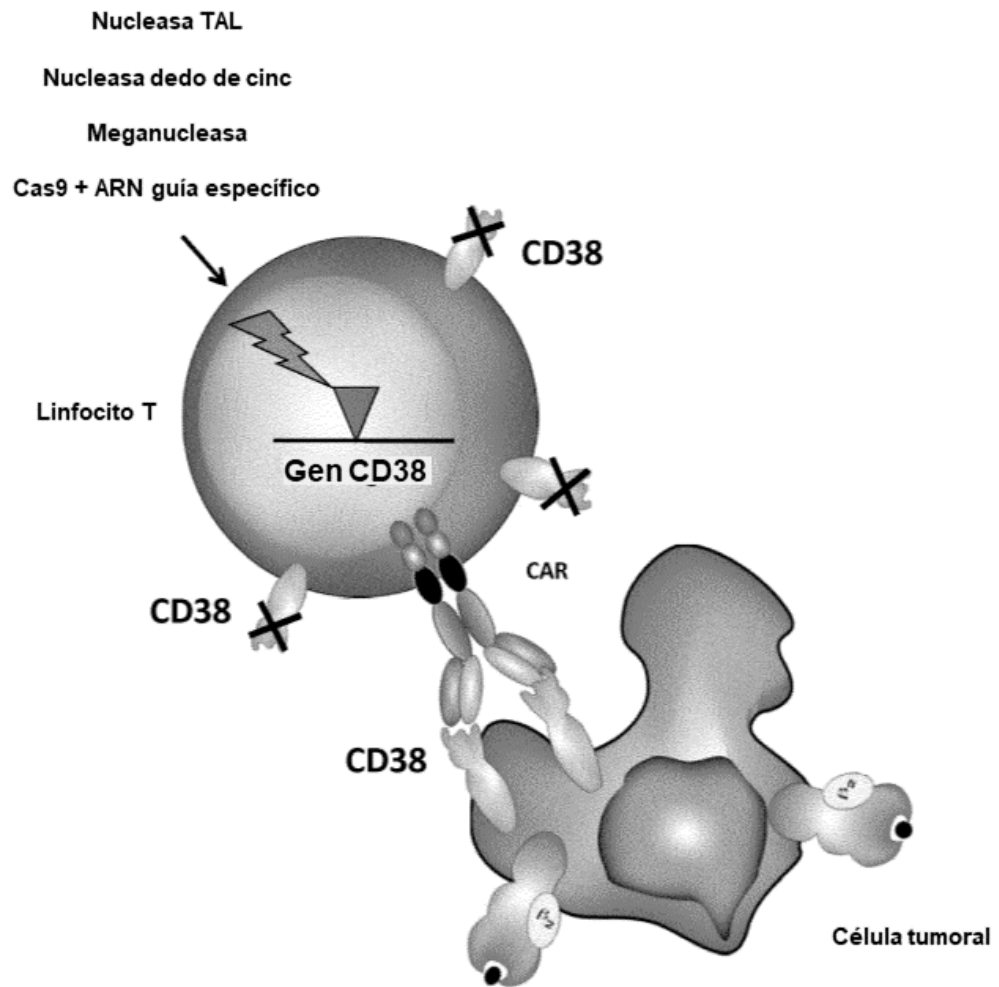
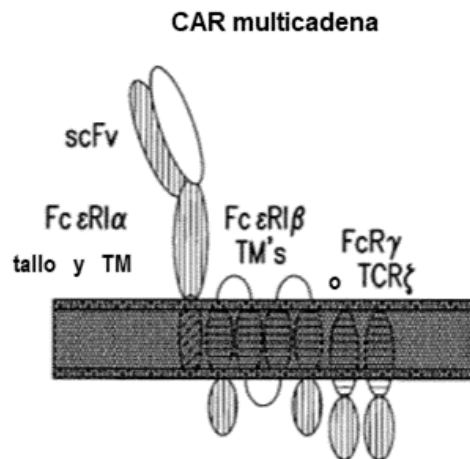


Figura 1



activación de los dominios
de señalización

- la cadena beta permite que todos los dominios de señalización estén en la posición yuxtamembrana natural
- cadena beta ya colocada para interacción de señales procedentes de FcRγ o TCRzeta

Figura 2

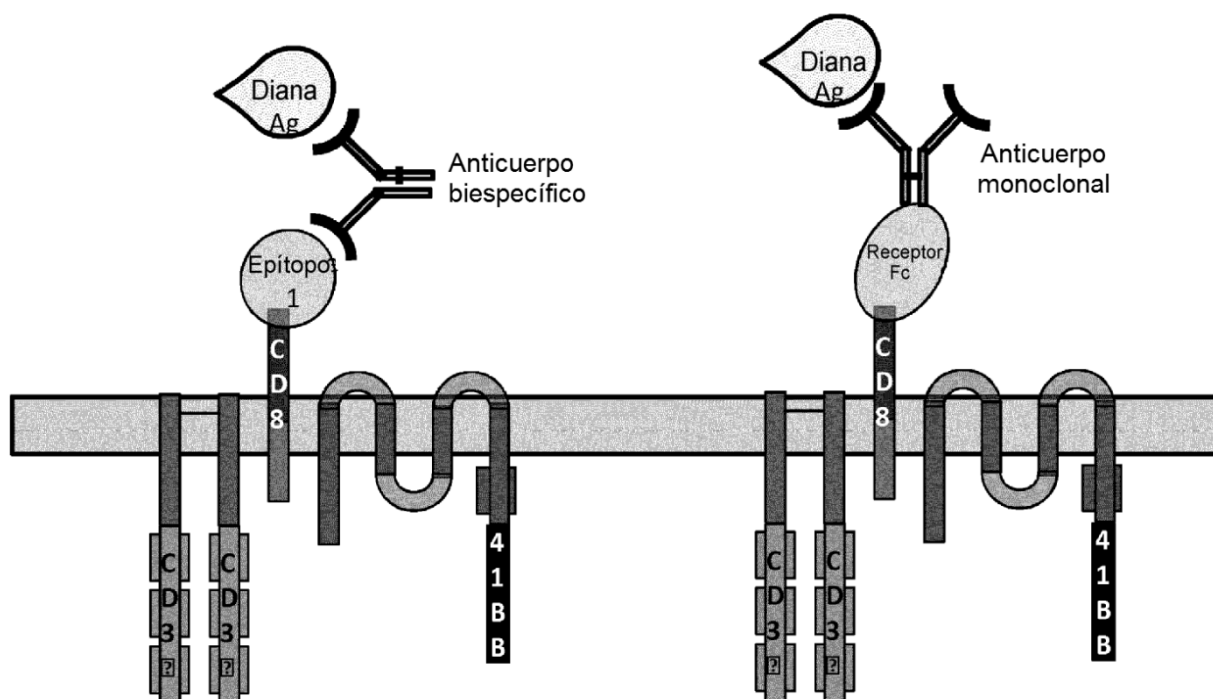


Fig. 3

Fig. 4

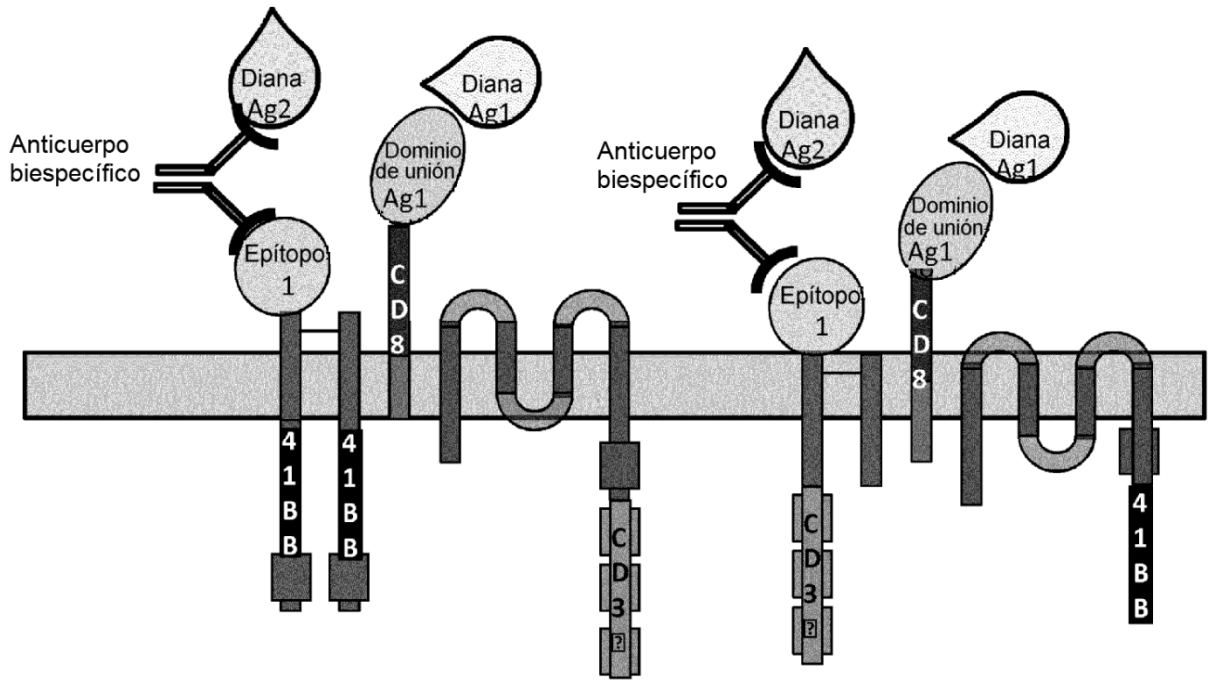


Fig. 5

Fig. 6

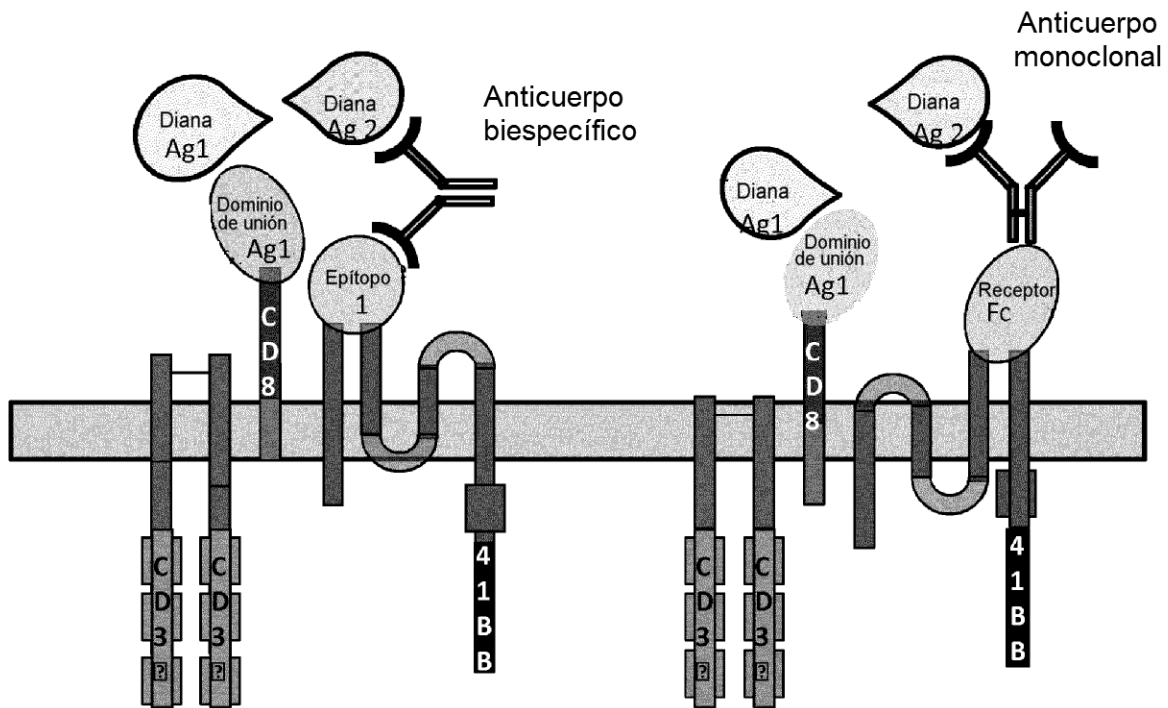


Fig. 7

Fig. 8

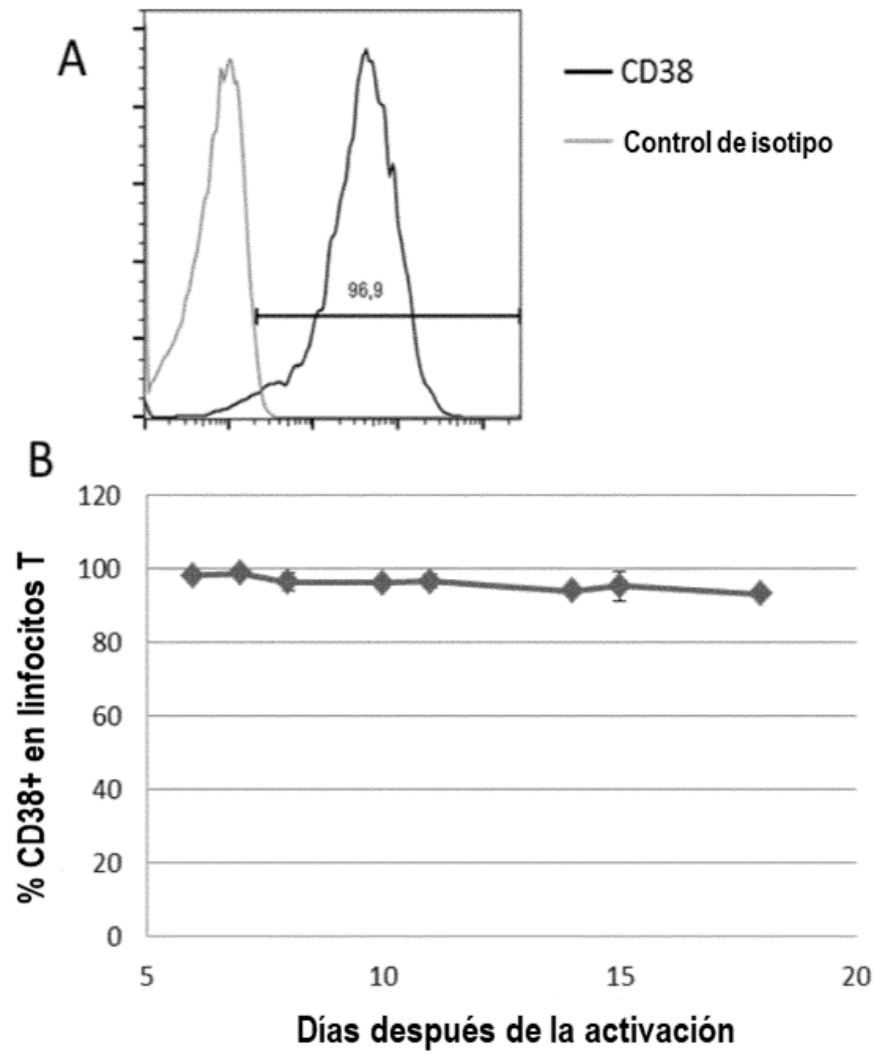


Figura 9

A

```

1  ATGSCAACT GCGAGTTCAG CCGGTGTGTC GGGGACAAAC CTGTCTGCCG GTCTCTAGG AGAGCCCAAC TGTGCTTGG COTCAGTATC CTGTCTCTGA
   JACGGGTTGA CGCTCAAGTC GGGCCACAGG CCCCCTGTTG GAGCAGCGGC CGAGAGATCC TCTGGGTTG AGACAGAAC GCAGTCATAG GACCAAGACT
101 TCTCTGTTGT GTTGTCTGCC GTGTCTGTC CAGGTGTCG CCAAGCTGCG AGCGGTCCGG GCACCAACCA GGCCTTCCG GAGACCTCC TGGCGCGATG
   AGGAGCAGCA CCAGGAGCGC CACGAGCAGG GTCTCAGCGG GTTGTCTACC TCCCGAGGCC CGTGTGTTT CCGGAAAGGG CTCTGGCAGG ACCGGGCTAC
201 CGTCAGTAC ACTGAATTC ATCTGAGAT GAGTGGGTT GCGCACTAG GCGCACCGGT GGGCACTGCG GGGACAGCAG GCGCCCGCGC GCAGGGAAGC
   GCAGTCAIG TGACTTTAAG TAGGACTCTA CTCACCCAA CCGTGAATC CCGTGACGC CCGTGTGTC CCGGGCGCG CGTCCCTTCG
301 GCGCCGGATC GCC
   GCGGCGCTAG CGG

```

Figura 10A

B

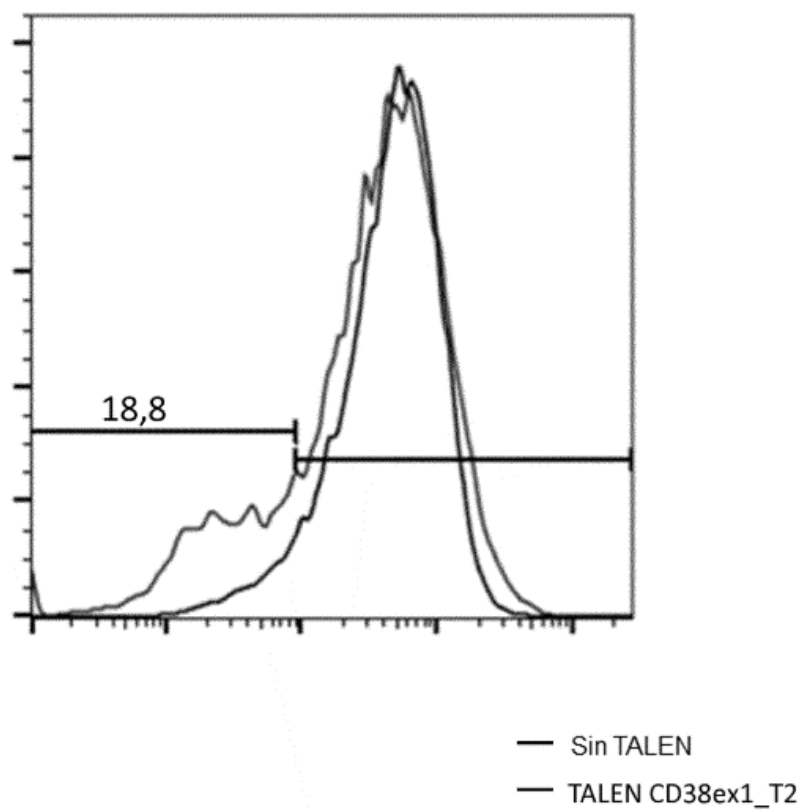
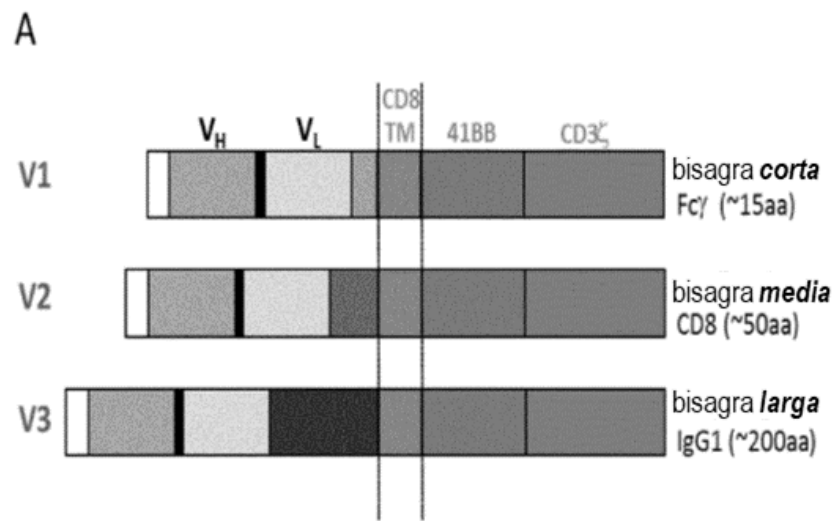


Figura 10 B



Figura 10C



B

Expresión de CD38 en las líneas de células diana

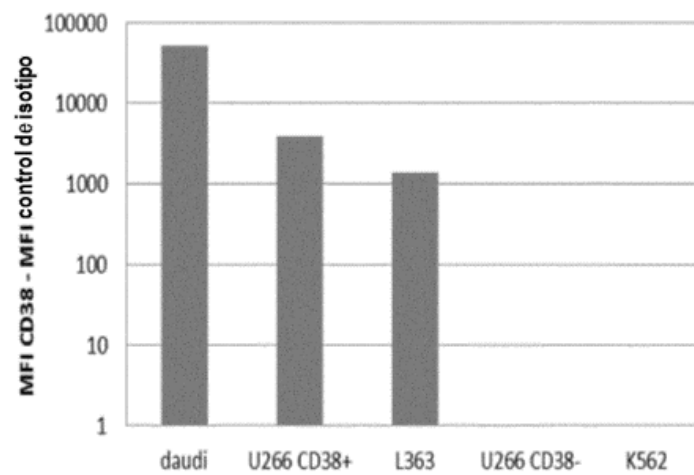
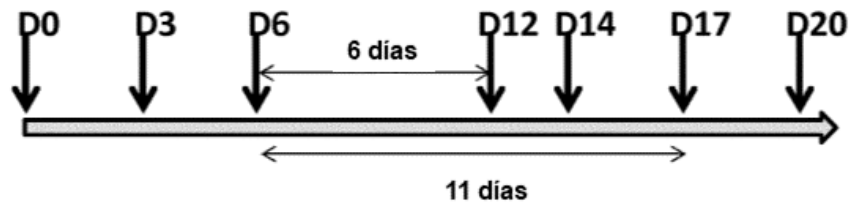


Figura 11



D0: purificación y activación de linfocitos T

D1: transfección de ARN de TALEn

D6: transducción de CAR

D12: análisis FACS

D14: ensayo de citotoxicidad

D17: reactivación

D20: análisis FACS

Figura 12

T01: pCLS25985 / pCLS25986

pCLS25985: LEFT-NG-HD-HD-NI-NN-NI-NN-NI-NN-HD-NI-NI-NG-NI-NG-NG#.DERECHA
pCLS25986: LEFT-NI-NN-NI-NG-NN-NI-NN-NN-NN-NG-NN-NI-NN-NN-HD-NG#.DERECHA

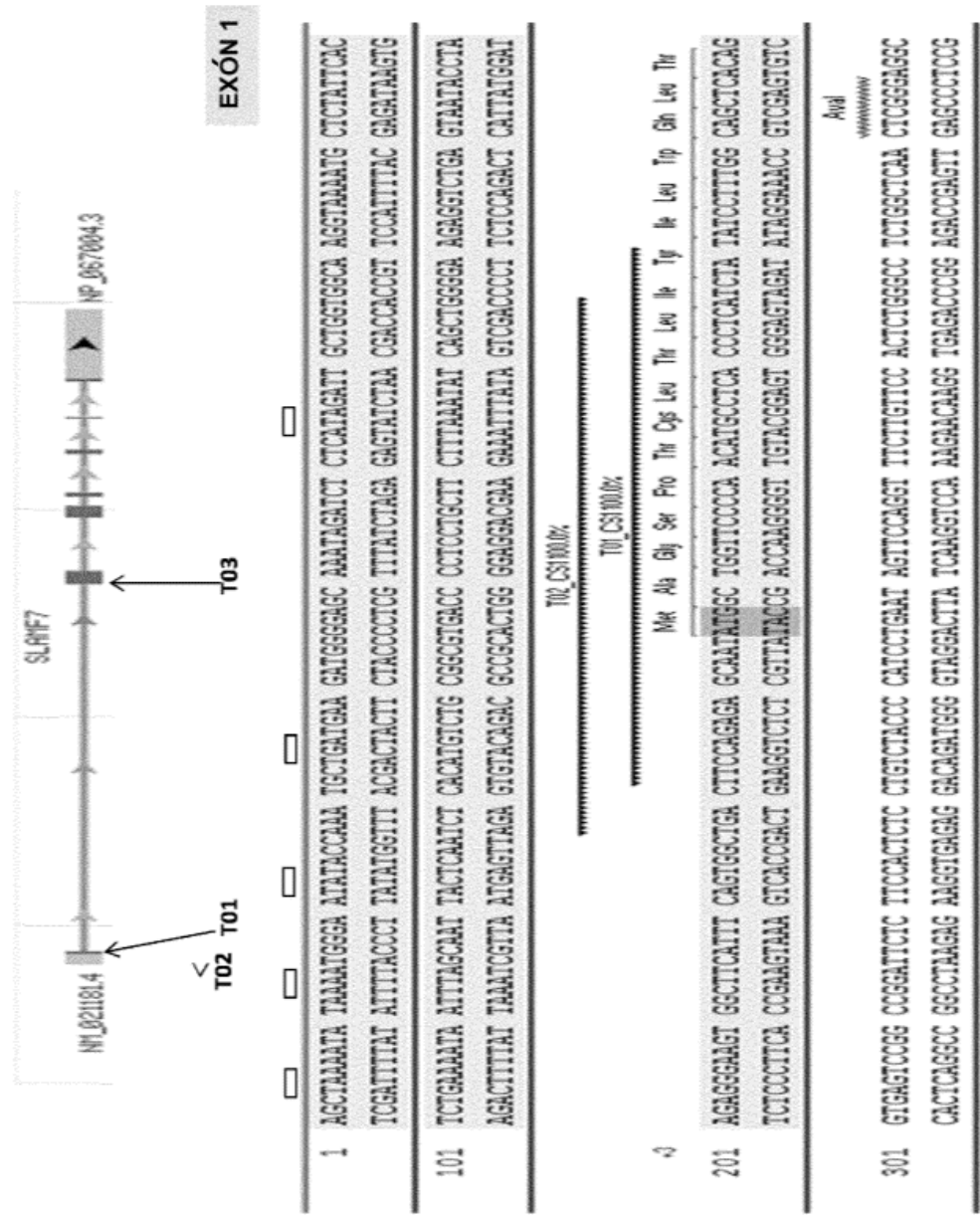
T02: pCLS25992 / pCLS26065

pCLS25992: LEFT-NN-NI-HD-NG-NG-HD-HD-NI-NN-NI-NN-NI-NN-HD-NI-NG#.DERECHA
pCLS26065: LEFT-NN-NI-NN-NN-NN-NG-NN-NI-NN-NN-HD-NI-NG-NN-NG-NG-DERECHA

T03: pCLS25987 / pCLS25988

pCLS25987: LEFT-NG-NN-NI-HD-NG-HD-NG-NI-NG-NG-NN-NG-HD-NG-NN-NG#.DERECHA
pCLS25988: LEFT-NN-NG-NI-NG-NN-NN-NG-NN-NI-HD-NI-NI-NN-NI-NN-NG#.DERECHA

Figura 13



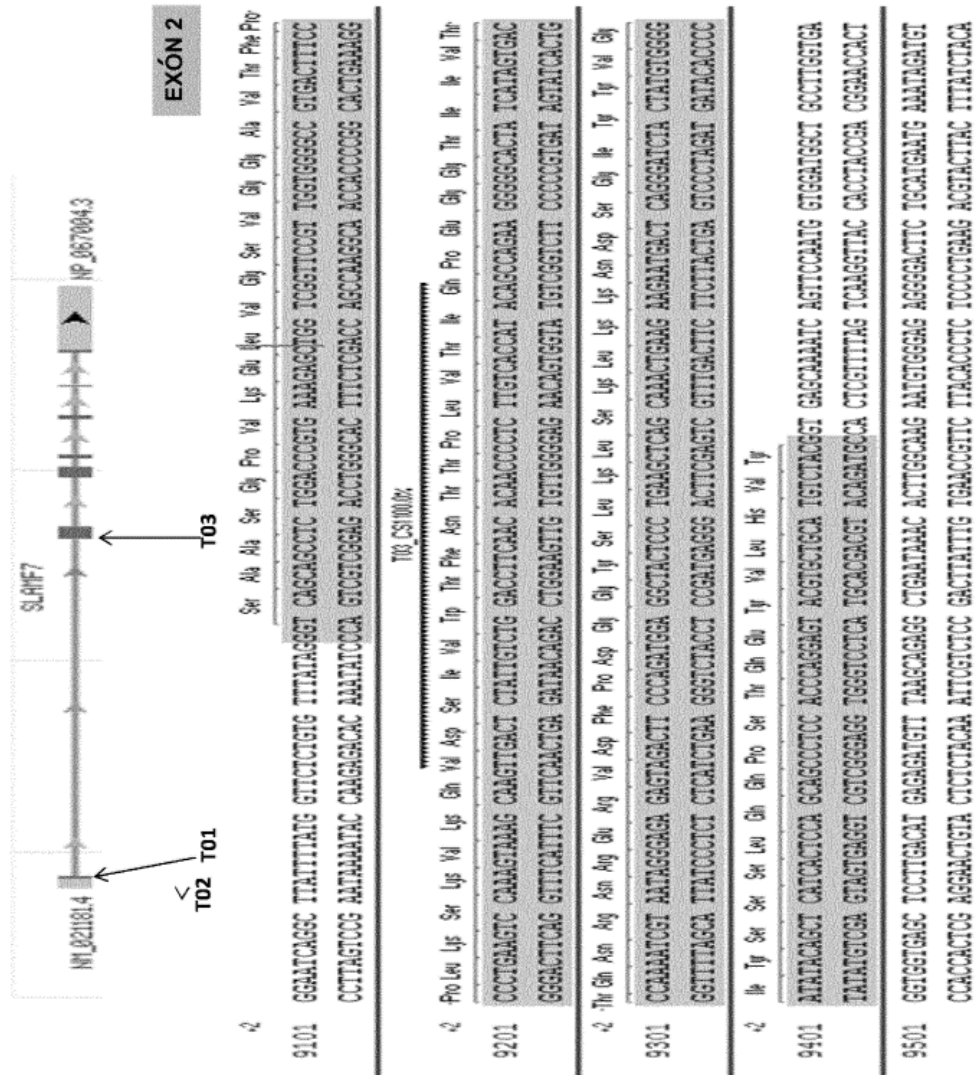


Figura 14B

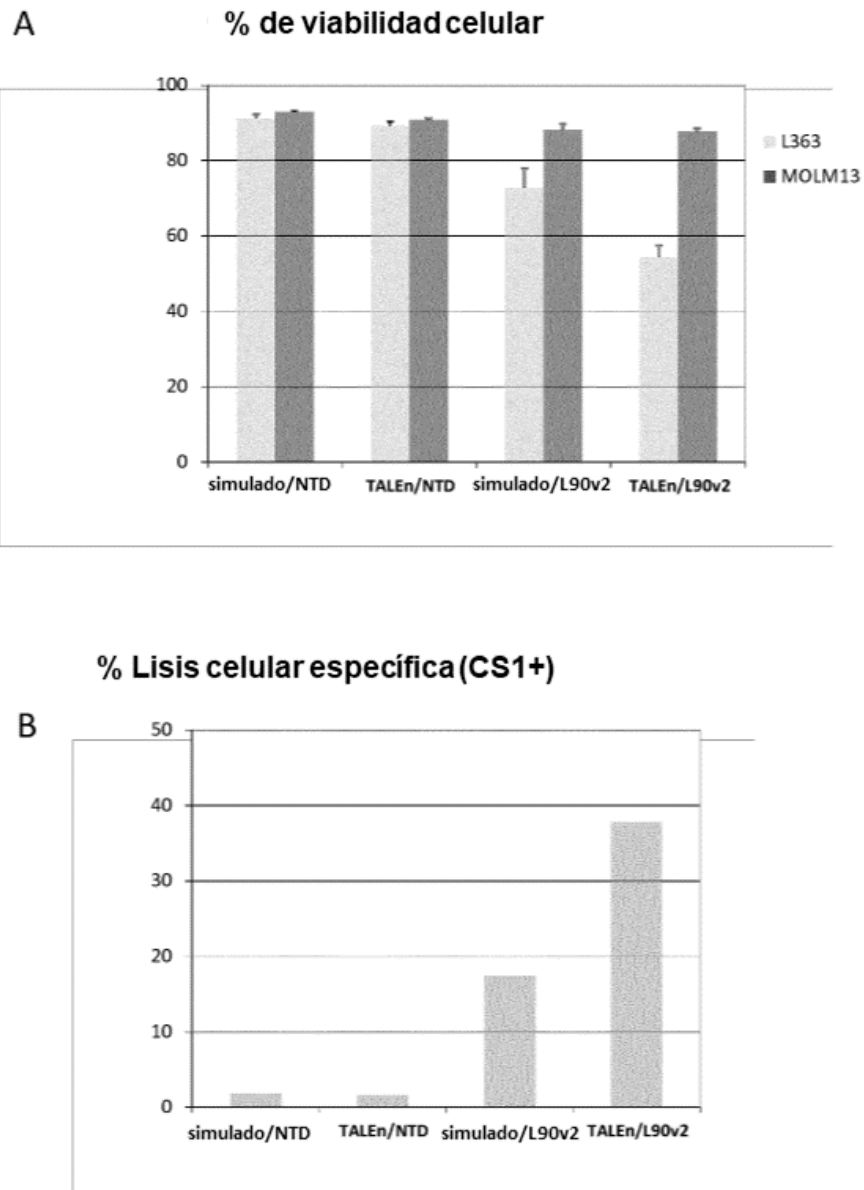


Figura 15

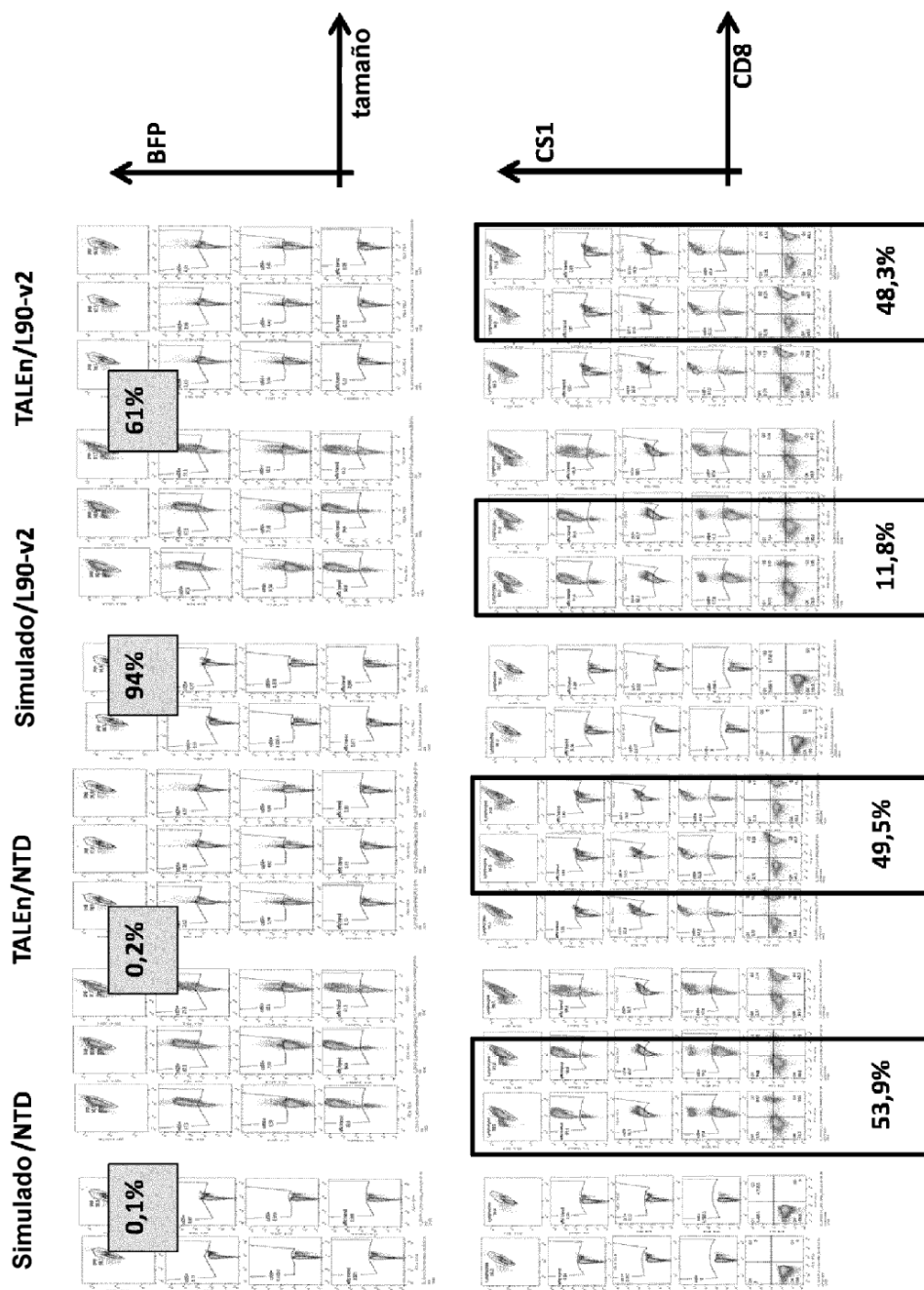


Figura 16

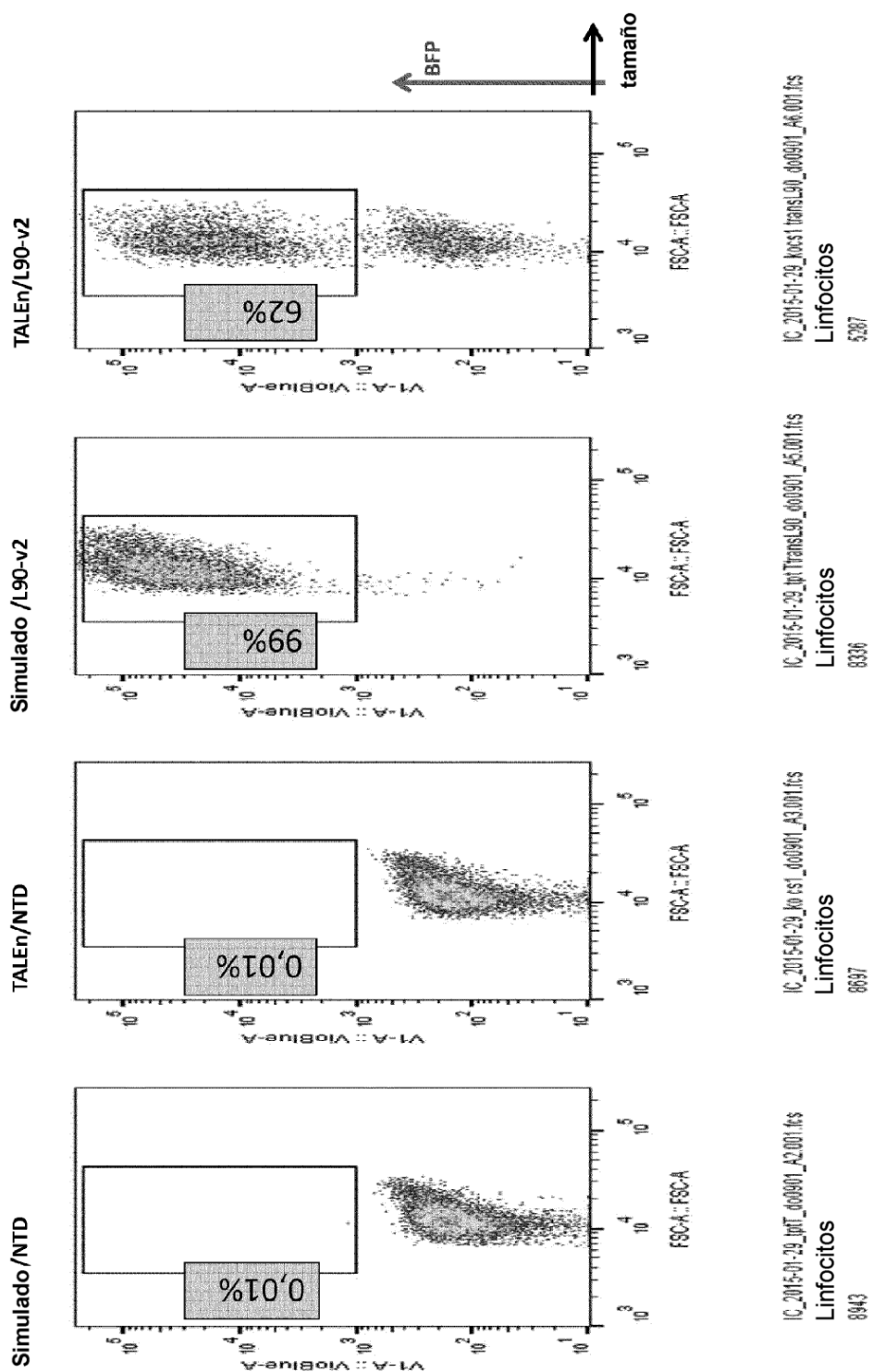


Figura 17

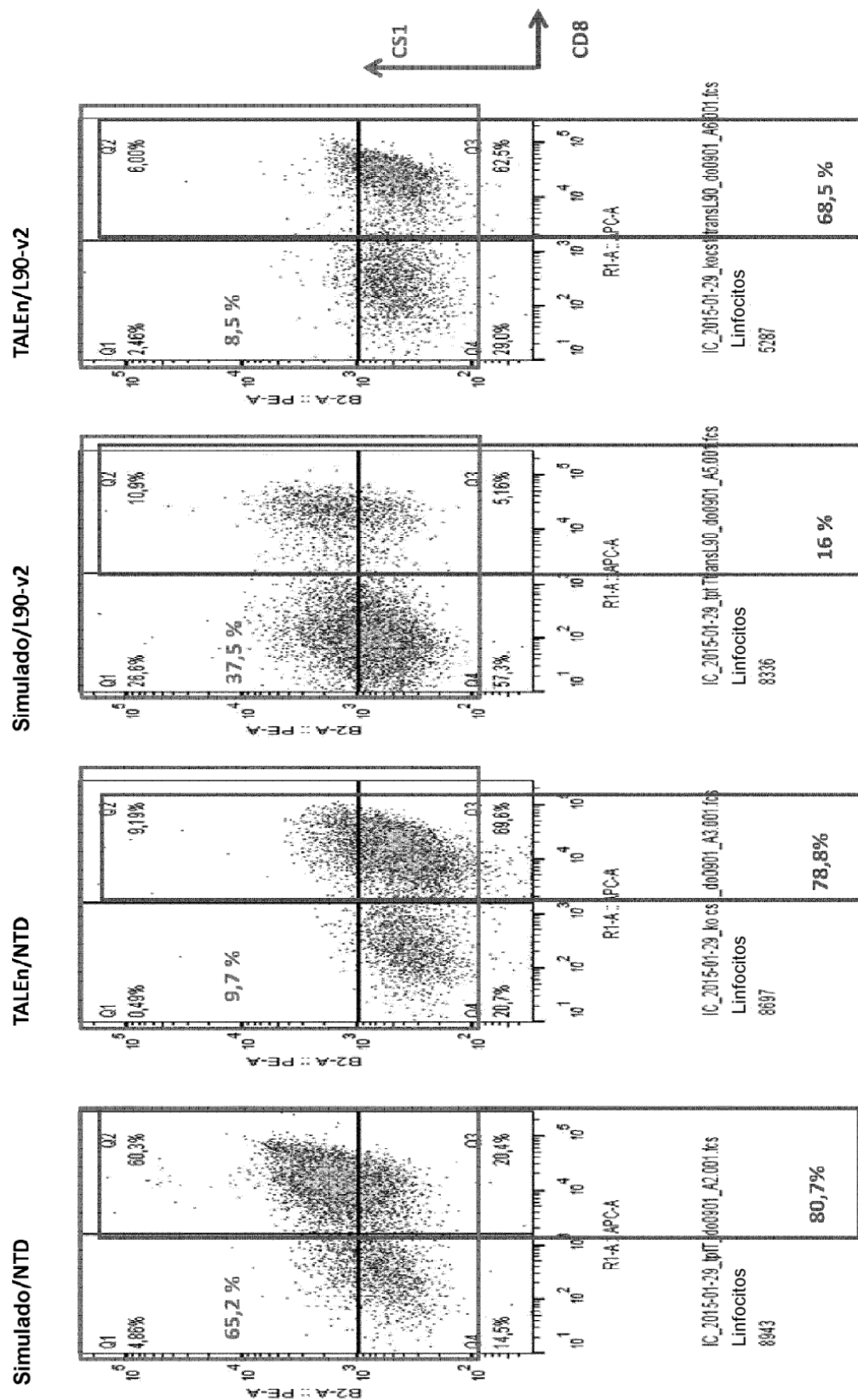


Figura 17 (cont.)