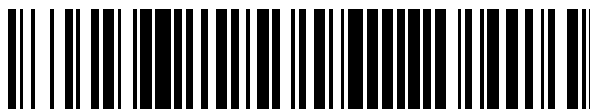


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 227**

51 Int. Cl.:

A61K 48/00	(2006.01) A61K 47/68	(2007.01)
C07K 14/705	(2006.01)	
C07K 16/28	(2006.01)	
C12N 5/0783	(2010.01)	
A61K 35/17	(2015.01)	
C07K 14/725	(2006.01)	
C07K 16/18	(2006.01)	
C12N 9/14	(2006.01)	
C12N 9/90	(2006.01)	
A61K 39/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2014** **E 17187293 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019** **EP 3300745**

54 Título: **Receptor de antígeno quimérico y métodos de uso del mismo**

30 Prioridad:

15.02.2013 US 201361765585 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.05.2020

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607-5200, US**

72 Inventor/es:

**WU, CHIA-YUNG;
ONUFFER, JAMES y
LIM, WENDELL A.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 758 227 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Receptor de antígeno quimérico y métodos de uso del mismo

5 Introducción

En la inmunoterapia adoptiva a base de células, pueden modificarse las células inmunitarias aisladas del paciente para que expresen proteínas sintéticas que permiten a las células llevar a cabo nuevas funciones terapéuticas después de que se hayan transferido de vuelta al paciente. Un ejemplo de dichas proteínas sintéticas es un receptor de antígeno quimérico (CAR). Un ejemplo de un CAR usado en la actualidad es una fusión de un dominio de reconocimiento extracelular (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno), un dominio transmembrana y uno o más dominios de señalización intracelular. Tras el acoplamiento con el antígeno, la parte de señalización intracelular del CAR puede iniciar una respuesta relacionada con la activación en una célula inmunitaria, tal como la liberación de moléculas citolíticas para inducir la muerte de células tumorales, etc. Sin embargo, no es posible controlar dichos CAR desde el punto de vista farmacológico. Existe la necesidad en la técnica de un CAR activable de manera condicional que pueda controlarse farmacológicamente.

Sumario

La presente divulgación proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR) heterodimérico condicionalmente activo y un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el CAR. La presente divulgación proporciona células modificadas genéticamente para producir el CAR. Puede usarse un CAR de la presente divulgación en diversos métodos, que también se proporcionan.

25 Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1A y 1B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 122.

Las figuras 2A y 2B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 123.

Las figuras 3A y 3B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 125.

La figura 4 proporciona secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 126.

Las figuras 5A y 5B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 168.

Las figuras 6A-C proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 169.

Las figuras 7A y 7B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 170.

Las figuras 8A y 8B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 197.

Las figuras 9A-C proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 206.

Las figuras 10A y 10B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 207.

Las figuras 11A-C proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 199.

La figura 12 ilustra la producción de IL-2 desencadenada por cinco variantes de centro activo de CAR.

La figura 13 ilustra la producción de IL-2 por líneas de control Jurkat.

La figura 14 ilustra una comparación entre las construcciones de CAR "122 + 206" y "197 + 206".

La figura 15 ilustra los datos de citotoxicidad con el centro activo de CAR "197+206".

La figura 16 ilustra los datos de activación de linfocitos T usando las construcciones de CAR "122 + 199"; "197 + 199"; y "122 + 168".

La figura 17 es una representación esquemática de un centro activo de CAR.

Las figuras 18A y 18B ilustran diversos centros activos de CAR.

Las figuras 19A-G ilustran la producción de IL-2 desencadenada por 3 variantes diferentes de centro activo de CAR que reconocen a mesotelina humana.

Las figuras 20A-C ilustran la producción de IL-2 desencadenada por una variante de centro activo de CAR con un par de dimerización sensible al ácido giberélico.

Las figuras 21A-D ilustran centros activos de CAR a modo de ejemplo y CAR convencionales con diversos dominios coestimuladores.

Las figuras 22A y 22B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 270.

Las figuras 23A y 23B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 300.

Las figuras 24A y 24B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción

n.º 336.

Las figuras 25A y 25B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 337.

Las figuras 26A y 26B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 357.

Las figuras 27A y 27B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 365.

Las figuras 28A y 28B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 366.

Las figuras 29A y 29B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 367.

Las figuras 30A y 30B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 398.

Las figuras 31A y 31B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 399.

Las figuras 32A y 32B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 400.

Las figuras 33A y 33B proporcionan secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de los dominios de la construcción n.º 358.

Definiciones

Los términos "polinucleótido" y "ácido nucleico", que se usan de manera indistinta en el presente documento, se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, ya sean ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos. Por lo tanto, este término incluye, pero sin limitación, ADN o ARN mono, bi o multicatenario, ADN genómico, ADNc, híbridos de ADN-ARN o un polímero que contiene bases púricas y pirimidínicas u otras bases de nucleótidos naturales, modificadas química o bioquímicamente, no naturales o derivatizadas.

Los términos "anticuerpo" e "inmunoglobulina" incluyen anticuerpos o inmunoglobulinas de cualquier isotipo, fragmentos de anticuerpos que conservan unión específica al antígeno, incluyendo, pero sin limitación, fragmentos Fab, Fv, scFv y Fd, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos monocatenarios y proteínas de fusión que comprenden una porción de unión a antígeno de un anticuerpo y una proteína que no sea un anticuerpo.

Los "fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, por ejemplo, la región de unión a antígeno o variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (Zapata *et al.*, Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995)); moléculas de anticuerpo monocatenarias; y anticuerpos multispecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. La digestión de papaína de anticuerpos produce dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, llamados fragmentos "Fab", cada uno con un solo sitio de unión a antígeno y un fragmento "Fc" residual, una designación que refleja la capacidad de cristalizar fácilmente. El tratamiento con pepsina produce un fragmento F(ab')₂ que tiene dos sitios de combinación con antígeno y sigue siendo capaz de reticularse con el antígeno.

Los fragmentos de anticuerpo Fv monocatenarios o "sFv" comprenden los dominios V_H y V_L de un anticuerpo, en los que estos dominios están presentes en una sola cadena polipeptídica. En algunas realizaciones, el polipéptido de Fv comprende además un enlazador polipeptídico entre los dominios V_H y V_L, lo que posibilita que el sFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno. Para una revisión de los sFv, véase Pluckthun en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, págs. 269-315 (1994).

Tal como se usa en el presente documento, el término "afinidad" se refiere a la constante de equilibrio para la unión reversible de dos agentes y se expresa como una constante de disociación (K_d). La afinidad puede ser al menos 1 vez mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor, al menos 6 veces mayor, al menos 7 veces mayor, al menos 8 veces mayor, al menos 9 veces mayor, al menos 10 veces mayor, al menos 20 veces mayor, al menos 30 veces mayor, al menos 40 veces mayor, al menos 50 veces mayor, al menos 60 veces mayor, al menos 70 veces mayor, al menos 80 veces mayor, al menos 90 veces mayor, al menos 100 veces mayor o al menos 1000 veces mayor o más, que la afinidad de un anticuerpo por secuencias de aminoácidos no relacionadas. La afinidad de un anticuerpo por una proteína diana puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 100 nanomolar (nM) a aproximadamente 0,1 nM, de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 1 picomolar (pM) o de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 1 femtomolar (fM) o más. Tal como se usa en el presente documento, el término "avidez" se refiere a la resistencia de un complejo de dos o más agentes a la disociación después de la dilución. Las expresiones "inmunorreactivo" y "se une preferentemente" se usan de manera intercambiable en el presente documento respecto de anticuerpos y/o fragmentos de unión a antígeno.

El término "unión" se refiere a una asociación directa entre dos moléculas, debido a, por ejemplo, interacciones covalentes, electrostáticas, hidrófobas e iónicas y/o de enlace de hidrógeno, incluyendo interacciones tales como puentes de sal y puentes de agua. La afinidad inespecífica se referirá a una unión con una afinidad de menos de aproximadamente 10⁻⁷ M, por ejemplo, unión con una afinidad de 10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M, 10⁻⁴ M, etc.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "región bisagra" se refiere a una región polipeptídica conectora flexible (también citada en el presente documento como "bisagra" o "espaciador") que proporciona flexibilidad y espaciado estructural a regiones polipeptídicas flanqueantes y puede consistir en polipéptidos naturales o sintéticos. Una "región bisagra" procedente de una inmunoglobulina (por ejemplo, IgG1) se define generalmente como una serie de Glu₂₁₆ a Pro₂₃₀ de IgG1 humana (Burton (1985) *Molec. Immunol.*, 22:161-206). Las regiones bisagra de otros isotipos de IgG pueden alinearse con la secuencia de IgG1 colocando los restos de cisteína primero y último que forman enlaces disulfuro (S-S) entre cadenas pesadas en las mismas posiciones. La región bisagra puede ser de origen natural o de origen no natural, incluyendo, pero sin limitación, una región bisagra alterada como se describe en la Patente de los Estados Unidos n.º 5.677.425. La región bisagra puede incluir una región bisagra completa procedente de un anticuerpo de una clase o subclase diferente a la del dominio CH1. La expresión "región bisagra" también puede incluir regiones procedentes de CD8 y otros receptores que proporcionan una función similar para proporcionar flexibilidad y espaciado a las regiones flanqueantes.

Un polipéptido "aislado" es uno que se ha identificado y separado y/o recuperado a partir de un componente de su ambiente natural. Los componentes contaminantes de su ambiente natural son materiales que podrían interferir con los usos diagnósticos o terapéuticos del polipéptido y pueden incluir enzimas, hormonas, y otros solutos proteicos o no proteicos. En algunas realizaciones, el polipéptido se purificará (1) en más de un 90 %, más de un 95 % o más de un 98 %, en peso de anticuerpo determinado mediante el método de Lowry, por ejemplo, más de un 99 % en peso, (2) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de secuencia de aminoácidos N-terminal o interna mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria o (3) hasta homogeneidad mediante electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio-poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones reductoras o no reductoras utilizando tinción de plata o de azul de Coomassie. Un polipéptido aislado incluye el polipéptido *in situ* con células recombinantes, ya que no estará presente al menos un componente del ambiente natural del polipéptido. En algunos casos, el polipéptido aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "células inmunitarias" incluye generalmente glóbulos blancos (leucocitos) que proceden de células madre hematopoyéticas (HSC) producidas en la médula ósea. Las "células inmunitarias" incluyen, por ejemplo, linfocitos (linfocitos T, linfocitos B, linfocitos citolíticos naturales (NK)) y células de origen mieloide (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, macrófagos y células dendríticas).

"Linfocito T" incluye todos los tipos de células inmunitarias que expresan CD3, incluyendo linfocitos T colaboradores (células CD4⁺), linfocitos T citotóxicos (células CD8⁺), linfocitos T reguladores (Treg) y linfocitos T gamma-delta.

Una "célula citotóxica" incluye linfocitos T CD8⁺, linfocitos citolíticos naturales (NK) y neutrófilos, siendo capaces estas células de mediar respuestas de citotoxicidad.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "célula madre" incluye generalmente células madre pluripotentes o multipotentes. Las "células madre" incluyen, por ejemplo, células madre embrionarias (ES); células madre mesenquimales (MSC); células madre pluripotentes inducidas (iPS); y células progenitoras comprometidas (células madre hematopoyéticas (HSC); células procedentes de la médula ósea, etc.).

Tal como se usan en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y similares, se refieren a obtener un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en lo referente a prevenir completa o parcialmente una enfermedad o un síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en lo referente a una cura parcial o completa para una enfermedad y/o un efecto adverso atribuible a la enfermedad. "Tratamiento", tal como se usa en el presente documento, abarca cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, por ejemplo, en un ser humano e incluye: (a) prevenir que se produzca la enfermedad en un sujeto que pueda tener predisposición a la enfermedad, pero al que aún no se le haya diagnosticado; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad.

Los términos "individuo", "sujeto", "hospedador" y "paciente", que se usan de manera indistinta en el presente documento, se refieren a un mamífero, incluyendo, pero sin limitación, muridos (por ejemplo, ratas, ratones), lagomorfos (por ejemplo, conejos), primates no humanos, humanos, cánidos, felinos, ungulados (por ejemplo, équidos, bóvidos, óvidos, suidos, caprinos), etc.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un agente o a las cantidades combinadas de dos agentes, que, cuando se administran a un mamífero u otro sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar dicho tratamiento para la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo de los agentes, la enfermedad y su gravedad y la edad, el peso, etc. del sujeto que se vaya a tratar.

Antes de describir en más detalle la presente invención, ha de comprenderse que la presente invención no se limita a las realizaciones concretas descritas, ya que estas obviamente pueden variar. También ha de entenderse que la terminología empleada en el presente documento tiene como único fin describir las realizaciones particulares y no pretende ser limitante, dado que el alcance de la presente invención se limitará únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

En los casos donde se proporciona un intervalo de valores, se entenderá que la presente invención abarca cada valor intermedio, hasta la décima de la unidad del límite inferior a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio dentro de dicho intervalo.

5 Pueden incluirse independientemente los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños y también se encuentran incluidos en la presente invención, salvo cualquier límite excluido específicamente en el intervalo indicado. En los casos donde el intervalo indicado incluya uno o ambos límites, también se incluyen en la invención los intervalos que excluyan uno cualquiera o ambos de los límites incluidos.

10 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se utilizan en el presente documento tienen el mismo significado que el normalmente entendido por un experto habitual en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque también pueden usarse en la puesta en práctica o la prueba de la presente invención cualquier método y materiales similares a los descritos en el presente documento, a continuación, se describen los métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en el presente documento se incorporan en el presente documento como referencia para divulgar y describir los métodos y/o materiales en relación con los que se citan en las publicaciones.

Cabe destacar que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una" y "el/la" incluyen referencia en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por lo tanto, 20 por ejemplo, la referencia a "un receptor de antígeno quimérico" incluye diversos dichos receptores de antígeno quiméricos y referencia al "par dimerizador de unión" incluye referencia a uno o más pares de unión a dimerizador y a equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la materia y así sucesivamente. Cabe destacar además que las reivindicaciones pueden redactarse de tal modo que excluyan cualquier elemento opcional. Como tal, esta afirmación pretende servir como fundamento para el uso de terminología excluyente tal como "únicamente", "solo" y 25 similares en relación con la cita de los elementos de las reivindicaciones o para el uso de una limitación "negativa".

Se apreciará que determinadas características de la invención, que, por claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola realización. Por el contrario, diversas características de la invención, que, por claridad, se describen en el contexto de una sola realización, también 30 pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones que pertenecen a la invención están abarcadas específicamente por la presente invención y se divulgan en el presente documento como si se hubiesen divulgado de manera individual y explícita todas y cada una de las combinaciones. Además, también se encuentran abarcadas por la presente invención todas las subcombinaciones de las diversas realizaciones y elementos de las mismas y se divulgan en el presente documento como si se hubiesen 35 divulgado de manera individual y explícita todas y cada una de dichas subcombinaciones.

Las publicaciones descritas en el presente documento se proporcionan únicamente por su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. No debe interpretarse que nada en el presente documento constituya una admisión de que la presente invención no tenga derecho a anteponer dicha publicación por virtud de una invención 40 anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes a las fechas de publicación reales, lo que podría necesitar ser confirmado de manera independiente.

Descripción detallada

45 La presente divulgación proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR) heterodimérico condicionalmente activo y un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el CAR. La presente divulgación proporciona células modificadas genéticamente para producir el CAR. Puede usarse un CAR de la presente divulgación en diversos métodos, que también se proporcionan.

50 RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO HETERODIMÉRICO CONDICIONALMENTE ACTIVO.

La presente divulgación proporciona un receptor de antígeno quimérico heterodimérico condicionalmente activo, que, por simplicidad, se cita en el presente documento como "CAR".

55 En algunas realizaciones, un CAR de la presente divulgación comprende: a) un primer polipéptido que comprende: i) un miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno); ii) un primer dominio modulador; iii) un primer miembro de un par de dimerización; e iv) un dominio transmembrana interpuesto entre el miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno) y el primer dominio modulador; y b) un segundo polipéptido que comprende: i) un dominio transmembrana; ii) un segundo dominio modulador; iii) un 60 segundo miembro del par de dimerización; e iv) un dominio de señalización intracelular. El dominio modulador puede ser un dominio coestimulador.

En algunas realizaciones, un CAR de la presente divulgación comprende: a) un primer polipéptido que comprende: i) un miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno); ii) un primer dominio 65 coestimulador; iii) un primer miembro de un par de dimerización (por ejemplo, un par de unión a dimerizador); e iv) un dominio transmembrana interpuesto entre el miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión

a antígeno) y el primer dominio coestimulador; y b) un segundo polipéptido que comprende: i) un dominio transmembrana; ii) un segundo dominio coestimulador; iii) un segundo miembro del par de dimerización (por ejemplo, el par de unión a dimerizador); e iv) un dominio de señalización intracelular.

- 5 En algunas realizaciones, un CAR de la presente divulgación comprende: a) un primer polipéptido que comprende: i) un miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno); ii) un dominio modulador; iii) un primer miembro de un par de dimerización (por ejemplo, un par de unión a dimerizador); iv) un dominio transmembrana interpuesto entre el miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno) y el dominio modulador; y b) un segundo polipéptido que comprende: i) un segundo miembro del par de dimerización (por ejemplo, el par de unión a dimerizador); e ii) un dominio de señalización intracelular. El dominio modulador puede ser un dominio coestimulador.

- 10 En algunas realizaciones, un CAR de la presente divulgación comprende: a) un primer polipéptido que comprende: i) un miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno); ii) un dominio coestimulador; iii) un primer miembro de un par de dimerización (por ejemplo, un par de unión a dimerizador); iv) un dominio transmembrana interpuesto entre el miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno) y el dominio coestimulador; y b) un segundo polipéptido que comprende: i) un segundo miembro del par de dimerización (por ejemplo, el par de unión a dimerizador); e ii) un dominio de señalización intracelular.

- 20 En la figura 17 se representa esquemáticamente un ejemplo de un CAR específico. Un CAR de la presente divulgación puede estar presente en la membrana plasmática de una célula eucariota, por ejemplo, una célula de mamífero, incluyendo entre las células de mamífero adecuadas, pero sin limitación, una célula citotóxica, un linfocito T, una célula madre, la descendencia de una célula madre, una célula progenitora, la descendencia de una célula progenitora y una célula NK. Cuando se encuentra presente en la membrana plasmática de una célula eucariota, un CAR de la presente divulgación se encuentra activo en presencia de: 1) un agente de dimerización que se une a los miembros primero y segundo del par de unión a dimerizador en el CAR o induce de otro modo la dimerización de los miembros primero y segundo del dímero; y 2) un factor que se une al miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un dominio de unión a antígeno), por ejemplo, un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR. El factor que se une al miembro del par de unión específica es un segundo miembro del par de unión específica. El segundo miembro del par de unión específica puede ser un factor soluble (por ejemplo, no unido a una célula); un factor presente en la superficie de una célula, tal como una célula diana; un factor presente sobre una superficie sólida; un factor presente en una bicapa lipídica; y similares. En los casos donde el miembro de un par de unión específica sea un anticuerpo y el segundo miembro del par de unión específica sea un antígeno, el antígeno puede ser un antígeno soluble (por ejemplo, no unido a una célula); un antígeno presente sobre la superficie de una célula, tal como una célula diana; un antígeno presente sobre una superficie sólida; un antígeno presente en una bicapa lipídica; y similares.

- En algunos casos, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un segundo miembro de un par de unión específica que se une al miembro del par de unión específica del CAR (por ejemplo, un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR) y un agente de dimerización, aumenta la expresión de al menos un ácido nucleico en la célula. Por ejemplo, en algunos casos, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR y a un agente de dimerización, aumenta la expresión de al menos un ácido nucleico en la célula en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con el nivel de transcripción del ácido nucleico en ausencia del antígeno y/o el agente de dimerización.

- 50 Como un ejemplo, el segundo polipéptido de un CAR de la presente divulgación puede incluir un polipéptido de señalización intracelular que contiene un motivo de activación en inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM); en dichos casos, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR y a un agente de dimerización, aumenta la transcripción dependiente del factor nuclear de linfocitos T activados (NFAT). La transcripción dependiente NFAT incluye la transcripción inducida por cualquier miembro de la familia de NFAT, incluyendo, por ejemplo, NFATc1, NFATc2, NFATc3, NFATc4, NFAT5; AP-1; Sp1; NKkB; y similares.

- Un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR y a un agente de dimerización, puede dar como resultado, en algunos casos, la producción aumentada de una o más citocinas por parte de la célula. Por ejemplo, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR y a un agente de dimerización, puede aumentar la producción de una citocina por parte de la célula en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos

aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la cantidad de citocinas producidas por la célula en ausencia del antígeno y/o del agente de dimerización. Las citocinas cuya producción puede aumentarse incluyen, pero sin limitación, un interferón, por ejemplo, IL-2, interferón gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), IL-15, IL-12, IL-4, IL-5, IL-10; una quimiocina; un factor de crecimiento; y similares.

En algunos casos, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR y a un agente de dimerización, puede dar como resultado tanto un aumento en la transcripción de un ácido nucleico en la célula como un aumento en la producción de una citocina por parte de la célula.

En algunos casos, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un agente de dimerización, da como resultado una actividad citotóxica por parte de la célula frente a una célula diana que expresa sobre su superficie un antígeno al que se une el dominio de unión a antígeno del primer polipéptido del CAR. Por ejemplo, en los casos donde la célula eucariota es una célula citotóxica (por ejemplo, una célula NK o un linfocito T citotóxico), un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de la célula y cuando se activa mediante un agente de dimerización, aumenta la actividad citotóxica de la célula frente a una célula diana que expresa sobre su superficie un antígeno al que se une el dominio de unión a antígeno del primer polipéptido del CAR. Por ejemplo, en los casos donde la célula eucariota es una célula NK o un linfocito T citotóxico, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de la célula y cuando se activa mediante un agente de dimerización, aumenta la actividad citotóxica de la célula en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la actividad citotóxica de la célula en ausencia del agente de dimerización.

En algunos casos, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR y a un agente de dimerización, puede dar como resultado otros eventos relacionados con la activación del CAR, tales como proliferación y expansión (ya sea debida a un aumento en la división celular o a respuestas anti-apoptóticas).

En algunos casos, un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana plasmática de una célula eucariota y cuando se activa mediante un antígeno que se une al dominio de unión a antígeno del CAR y a un agente de dimerización, puede dar como resultado otros eventos relacionados con la activación del CAR, tales como modulación de la señalización intracelular, diferenciación celular o muerte celular.

Un CAR de la presente divulgación puede estar presente en la membrana de una célula eucariota, donde los polipéptidos primero y segundo del CAR no se encuentran unidos covalentemente entre sí. Un CAR de la presente divulgación puede estar presente en la membrana de una célula eucariota en forma de un heterodímero individual que no está unido covalentemente a cualquier otro polipéptido en la membrana. Como alternativa, un primer CAR de la presente divulgación puede estar presente en la membrana de una célula eucariota en forma de un heterodímero que está unido de manera covalente o no covalente a un segundo CAR de la presente divulgación. En algunos casos, los CAR primero y segundo están unidos covalentemente a través de un enlace disulfuro formado entre las cisteínas presentes en una región bisagra presente tanto en el primer polipéptido del primer CAR como en el primer polipéptido del segundo CAR.

En algunos casos, un CAR de la presente divulgación puede estar presente en la membrana de una célula eucariota, donde los primeros polipéptidos del CAR comprenden un fragmento de anticuerpo y los segundos polipéptidos del CAR comprenden un dominio de transducción de señales procedente de un receptor de citocinas, de tal forma que, tras dimerizar, el CAR puede representar un CAR de cuerpo de señalización heterodimérico, por ejemplo, un cuerpo de señalización formado por al menos dos polipéptidos independientes. Un "cuerpo de señalización", tal como se conoce en la técnica, es una sola macromolécula quimérica formada por un fragmento de anticuerpo y un dominio de transducción de señales procedente de un receptor de citocinas. En determinados casos, un CAR de cuerpo de señalización heterodimérico de la presente divulgación, cuando está presente en la membrana celular de una célula eucariota, dimerizado por un dimerizador y activado por un antígeno, por ejemplo, un antígeno oligomerizado, puede inducir la oligomerización del CAR de cuerpo de señalización heterodimérico. Dicha oligomerización inducida por ligando de un CAR de cuerpo de señalización heterodimérico puede activar, por ejemplo, aumentar o perpetuar, por ejemplo, mantener, la transducción de señales, por ejemplo, la oligomerización inducida por ligando de un CAR de cuerpo de señalización heterodimérico puede transmitir una señal que desencadena una respuesta celular. En algunos casos, se puede emplear una serie de CAR de cuerpo de señalización heterodiméricos de manera combinatoria para desencadenar una respuesta celular deseada.

Miembro de un par de unión específica

Un CAR de la presente divulgación incluye un miembro de un par de unión específica. Los pares de unión específica

incluyen, pero sin limitación, pares de unión de antígeno-anticuerpo; pares de unión de ligando-receptor; y similares. Por lo tanto, un miembro de un par de unión específica adecuado para su uso en un CAR de la presente divulgación incluye un antígeno; un anticuerpo; un ligando; y un receptor de unión a ligando.

5 Dominio de unión a antígeno

Un dominio de unión a antígeno adecuado para su uso en un CAR de la presente divulgación puede ser cualquier polipéptido de unión a antígeno, conociéndose en la técnica una amplia variedad de los mismos. En algunos casos, el dominio de unión a antígeno es un Fv monocatenario (scFv). Son adecuados para su uso otros dominios de reconocimiento a base de anticuerpos (VHH de cAb (dominios variables de camélido) y versiones humanizadas, VH de IgNAR (dominios variables de anticuerpos de tiburón) y versiones humanizadas, VH de sdAb (dominios variables de anticuerpo de un solo dominio) y dominios variables de anticuerpo "camelizados". En algunos casos, también son adecuados para su uso dominios de reconocimiento a base de receptores de linfocitos T (TCR), tales como TCR monocatenarios (scTv, V α V β que contiene dos dominios de TCR monocatenarios).

Un dominio de unión a antígeno adecuado para su uso en un CAR de la presente divulgación puede tener diversas especificidades de unión a antígeno. En algunos casos, el dominio de unión a antígeno es específico para un epítipo presente en un antígeno que se expresa por (se sintetiza por) una célula cancerosa, es decir, un antígeno asociado a células cancerosas. El antígeno asociado a células cancerosas puede ser un antígeno asociado con, por ejemplo, una célula de cáncer de mama, un linfoma de linfocitos B, una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de cáncer de ovario, una célula de cáncer de próstata, un mesotelioma, una célula de cáncer de pulmón (por ejemplo, una célula de cáncer microcítico de pulmón), una célula de linfoma no Hodgkin de linfocitos B (B-NHL), una célula de cáncer de ovario, una célula de cáncer de próstata, una célula de mesotelioma, una célula de cáncer de pulmón (por ejemplo, una célula de cáncer microcítico de pulmón), una célula de melanoma, una célula de leucemia linfocítica crónica, una célula de leucemia linfocítica aguda, una célula de neuroblastoma, un glioma, un glioblastoma, un meduloblastoma, una célula de cáncer colorrectal, etc. Un antígeno asociado con células cancerosas también puede expresarse por una célula no cancerosa.

Los ejemplos no limitantes de antígenos a los que puede unirse el dominio de unión a antígeno de un CAR específico incluyen, por ejemplo, CD19, CD20, CD38, CD30, Her2/neu, ERBB2, CA125, MUC-1, antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), molécula de adhesión superficial CD44, mesotelina, antígeno carcinoembrionario (CEA), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), EGFRvIII, receptor de factor de crecimiento endotelial vascular-2 (VEGFR2), antígeno asociado con melanoma de alto peso molecular (HMW-MAA), MAGE-A1, IL-13R- α 2, GD2 y similares.

Ligando

En algunos casos, un miembro de un par de unión específica adecuado para su uso en un CAR específico es un ligando para un receptor. Los ligandos incluyen, pero sin limitación, citocinas (por ejemplo, IL-13, etc.); factores de crecimiento (por ejemplo, herregulina; factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF); y similares); un péptido de unión a integrina (por ejemplo, un péptido que comprende la secuencia Arg-Gly-Asp); y similares.

En los casos donde un miembro de un par de unión específica en un CAR específico sea un ligando, el CAR puede activarse en presencia tanto de un agente dimerizador como de un segundo miembro del par de unión específica, siendo en este caso el segundo miembro del par de unión específica un receptor para el ligando. Por ejemplo, en los casos donde el ligando es VEGF, el segundo miembro del par de unión específica puede ser un receptor de VEGF, incluyendo un receptor de VEGF soluble. A modo de ejemplo adicional, en los casos donde el ligando es herregulina, el segundo miembro del par de unión específica puede ser Her2.

50 Receptores

Como se ha indicado anteriormente, en algunos casos, el miembro de un par de unión específica que se incluye en un CAR específico es un receptor, por ejemplo, un receptor para un ligando, un co-receptor, etc. El receptor puede ser un fragmento de unión a ligando de un receptor. Los receptores adecuados incluyen, pero sin limitación, un receptor de factores de crecimiento (por ejemplo, un receptor de VEGF); un polipéptido de receptor de tipo lectina de linfocitos citolíticos, subfamilia K, miembro 1 (NKG2D) (receptor para MICA, MICB y ULB6); un receptor de citocinas (por ejemplo, un receptor de IL-13; un receptor de IL-2; etc.); Her2; CD27; un receptor de citotoxicidad natural (NCR) (por ejemplo, el polipéptido NKP30 (NCR3/CD337) (receptor para el transcrito 3 asociado a HLA-B (BAT3) y B7-H6); etc.); etc.

Región bisagra

En algunos casos, el primer polipéptido de un CAR concreto comprende una región bisagra (también citada en el presente documento como un "espaciador"), encontrándose la región bisagra interpuesta entre el dominio de unión a antígeno y el dominio transmembrana. En algunos casos, la región bisagra es una región bisagra de cadena pesada de inmunoglobulina. En algunos casos, la región bisagra es un polipéptido de región bisagra procedente de un receptor

(por ejemplo, una región bisagra procedente de CD8).

La región bisagra puede tener una longitud de aproximadamente 4 aminoácidos a aproximadamente 50 aminoácidos, por ejemplo, de aproximadamente 4 aa a aproximadamente 10 aa, de aproximadamente 10 aa a aproximadamente 15 aa, de aproximadamente 15 aa a aproximadamente 20 aa, de aproximadamente 20 aa a aproximadamente 25 aa, de aproximadamente 25 aa a aproximadamente 30 aa, de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 40 aa o de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 50 aa.

Pueden seleccionarse fácilmente espaciadores adecuados y pueden tener cualquiera de una serie de longitudes adecuadas, tal como de 1 aminoácido (por ejemplo, Gly) a 20 aminoácidos, de 2 aminoácidos a 15 aminoácidos, de 3 aminoácidos a 12 aminoácidos, incluyendo de 4 aminoácidos a 10 aminoácidos, de 5 aminoácidos a 9 aminoácidos, de 6 aminoácidos a 8 aminoácidos o de 7 aminoácidos a 8 aminoácidos y pueden ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 aminoácidos.

Los espaciadores a modo de ejemplo incluyen polímeros de glicina (G)_n, polímeros de glicina-serina (incluyendo, por ejemplo, (GS)_n, (GSGGS)_n (SEQ ID NO: 37) y (GGGS)_n (SEQ ID NO: 38), siendo n un número entero de al menos uno), polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina y otros enlazadores flexibles conocidos e la técnica. Pueden usarse polímeros de glicina y de glicina-serina; tanto Gly como Ser están relativamente desestructuradas y, por lo tanto, pueden servir como anclaje neutro entre componentes. Pueden usarse polímeros de glicina; la glicina tiene acceso a un espacio phi-psi significativamente mayor incluso que la alanina y está menos restringida que los restos con cadenas laterales más largas (véase Sheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)). Los espaciadores a modo de ejemplo pueden comprender secuencias de aminoácidos que incluyen, pero sin limitación, GGSG (SEQ ID NO: 39), GSGG (SEQ ID NO: 40), GSGG (SEQ ID NO: 41), GSGGG (SEQ ID NO: 42), GGGSG (SEQ ID NO: 43), GSSSG (SEQ ID NO: 44) y similares.

En algunos casos, la región bisagra en el primer polipéptido de un CAR concreto incluye al menos una cisteína. Por ejemplo, en algunos casos, la región bisagra puede incluir la secuencia Cys-Pro-Pro-Cys. Si está presente, puede estar disponible una cisteína en la región bisagra de un primer CAR para que forme un enlace disulfuro con una región bisagra en un segundo CAR.

Se conocen en la técnica secuencias de aminoácidos de regiones bisagra de inmunoglobulina; véase, por ejemplo, Tan *et al.* (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:162; y Huck *et al.* (1986) Nucl. Acids Res. 14:1779. A modo de ejemplos no limitantes, una región bisagra de inmunoglobulina puede incluir una de las siguientes secuencias de aminoácidos: DKTHT (SEQ ID NO: 45); CPPC (SEQ ID NO: 46); CPEPKSCDTPPPCPR (SEQ ID NO: 47) (véase, por ejemplo, Glaser *et al.* (2005) J. Biol. Chem. 280:41494); ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO: 48); KSCDKTHTTCP (SEQ ID NO: 49); KCCVDCP (SEQ ID NO: 50); KYGPPCP (SEQ ID NO: 51); EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 52) (bisagra de IgG1 humana); ERKCCVECP (SEQ ID NO: 53) (bisagra de IgG2 humana); ELKTPLGDTTHTCPRCP (SEQ ID NO: 54) (bisagra de IgG3 humana); SPNMVPHAHHAQ (SEQ ID NO: 55) (bisagra de IgG4 humana); y similares.

La región bisagra puede comprender una secuencia de aminoácidos de una región bisagra de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana. La región bisagra puede incluir una o más sustituciones y/o inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos en comparación con una región bisagra de tipo silvestre (de origen natural). Por ejemplo, puede sustituirse His₂₂₉ de la bisagra de IgG1 humana por Tyr, de tal forma que la región bisagra comprende la secuencia EPKSCDKTYTCPPCP (SEQ ID NO: 52); véase, por ejemplo, Yan *et al.* (2012) J. Biol. Chem. 287:5891.

La región bisagra puede comprender una secuencia de aminoácidos procedente de CD8 humano; por ejemplo, la región bisagra puede comprender la secuencia de aminoácidos: TTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (SEQ ID NO: 56), o una variante de la misma.

Dominio transmembrana

Los polipéptidos primero y segundo de un CAR de la presente divulgación incluyen dominios transmembrana para su inserción en una membrana de célula eucariota. El dominio transmembrana del primer polipéptido está interpuesto entre el dominio de unión a antígeno y el dominio coestimulador. En los casos donde el primer polipéptido incluye una región bisagra, el dominio transmembrana está interpuesto entre la región bisagra y el dominio coestimulador, de tal forma que el primer polipéptido comprende, en orden de extremo amino (extremo N-terminal) al extremo carboxilo (extremo C-terminal): un dominio de unión a antígeno; una región bisagra; un dominio transmembrana; un primer dominio coestimulador; y un primer miembro de un par de unión a dimerizador.

El dominio transmembrana del segundo polipéptido se encuentra en o próximo al extremo N-terminal del polipéptido, de tal forma que el segundo polipéptido comprende, en orden desde el extremo N-terminal al extremo C-terminal: un dominio transmembrana; un segundo dominio coestimulador; un segundo miembro del par de unión a dimerizador; y un dominio de señalización intracelular.

Es adecuado para su uso cualquier dominio transmembrana (TM) que posibilite la inserción de un polipéptido en la membrana celular de una célula eucariota (por ejemplo, de mamífero). Como un ejemplo no limitante, puede usarse la secuencia TM, IYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYC (SEQ ID NO: 30). Los ejemplos no limitantes adicionales de

secuencias TM adecuadas incluyen: a) procedente de CD8 beta: LGLLVAGVLVLLVSLGVAIHLCC (SEQ ID NO: 57); b) procedente de CD4: ALIVLGGVAGLLIFGLGIFFCVRC (SEQ ID NO: 58); c) procedente de CD3 zeta: LCYLLDGILFIYGVILTALFLRV (SEQ ID NO: 59); d) procedente de CD28: WVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV (SEQ ID NO: 60); e) procedente de CD134 (OX40): VAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLL (SEQ ID NO: 61); y f) procedente de CD7: ALPAALAVISFLLGLGLGVACVLA (SEQ ID NO: 62).

Enlazadores

En algunos casos, un primer polipéptido de un CAR específico incluye un enlazador entre cualesquiera dos dominios adyacentes. Por ejemplo, puede disponerse un enlazador entre el dominio transmembrana y el primer dominio coestimulador del primer polipéptido. A modo de ejemplo adicional, puede disponerse un enlazador entre el primer dominio coestimulador y el primer miembro de un par de unión a dimerizador del primer polipéptido. A modo de ejemplo adicional, puede disponerse un enlazador entre el dominio transmembrana y el segundo dominio coestimulador del segundo polipéptido. A modo de ejemplo adicional, puede disponerse un enlazador entre el segundo dominio coestimulador y el segundo miembro de un par de unión a dimerizador del segundo polipéptido. A modo de ejemplo adicional, puede disponerse un enlazador entre el segundo miembro del par de unión a dimerizador y el dominio de señalización intracelular del segundo polipéptido.

El péptido enlazador puede tener cualquiera de diversas secuencias de aminoácidos. Las proteínas pueden estar unidas mediante un péptido espaciador, generalmente de naturaleza flexible, aunque no se excluyen otros enlaces químicos. Un enlazador puede ser un péptido de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 40 aminoácidos de longitud o de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 25 aminoácidos de longitud. Estos enlazadores pueden producirse usando oligonucleótidos sintéticos que codifican los enlazadores para acoplar las proteínas. Pueden usarse enlazadores peptídicos con cierto grado de flexibilidad. Los péptidos enlazadores pueden tener prácticamente cualquier secuencia de aminoácidos, teniendo en cuenta que los enlazadores adecuados tendrán una secuencia que dé como resultado un péptido generalmente flexible. El uso de aminoácidos pequeños, tales como glicina y alanina, es útil para crear un péptido flexible. La creación de dichas secuencias es rutinaria para los expertos en la materia.

Los enlazadores adecuados pueden seleccionarse fácilmente y pueden tener una longitud cualquiera que sea adecuada, tal como de 1 aminoácido (por ejemplo, Gly) a 20 aminoácidos, de 2 aminoácidos a 15 aminoácidos, de 3 aminoácidos a 12 aminoácidos, incluyendo de 4 aminoácidos a 10 aminoácidos, de 5 aminoácidos a 9 aminoácidos, de 6 aminoácidos a 8 aminoácidos o de 7 aminoácidos a 8 aminoácidos y pueden ser de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 aminoácidos.

Los enlazadores peptídicos a modo de ejemplo incluyen polímeros de glicina (G_n), polímeros de glicina-serina (incluyendo, por ejemplo, $(GS)_n$, $GSGGS_n$ (SEQ ID NO: 37) y $GGGS_n$ (SEQ ID NO: 38), siendo n un número entero de al menos uno), polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina y otros enlazadores flexibles conocidos e la técnica. Son interesantes los polímeros de glicina y de glicina-serina ya que estos dos aminoácidos están relativamente desestructurados y, por lo tanto, pueden servir como anclaje neutro entre componentes. Los polímeros de glicina son particularmente interesantes dado que la glicina tiene acceso a un espacio phi-psi significativamente mayor incluso que la alanina y está menos restringida que los restos con cadenas laterales más largas (véase Sheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)). Los enlazadores flexibles a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, $GGSG$ (SEQ ID NO: 39), $GSGGG$ (SEQ ID NO: 40), $GSGSG$ (SEQ ID NO: 41), $GSGGG$ (SEQ ID NO: 42), $GGGSG$ (SEQ ID NO: 43), $GSSSG$ (SEQ ID NO: 44) y similares. Un experto habitual en la materia reconocerá que el diseño de un péptido conjugado a cualquier elemento descrito anteriormente puede incluir enlazadores que son total o parcialmente flexibles, de tal forma que el enlazador pueda incluir un enlazador flexible, así como una o más porciones que confieran una estructura menos flexible.

Dominios moduladores

Los dominios moduladores adecuados para su uso en un CAR de la presente divulgación incluyen dominios coestimuladores.

En algunos casos, el dominio modulador del primer polipéptido de un CAR concreto tiene sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que el dominio modulador del segundo polipéptido del CAR. Por ejemplo, en algunos casos, el dominio modulador del primer polipéptido de un CAR comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 %, al menos aproximadamente un 99 % o un 100 %, idéntica a la secuencia de aminoácidos del dominio modulador en el segundo polipéptido del CAR. El dominio modulador del primer polipéptido de un CAR concreto puede tener sustancialmente la misma longitud que el dominio modulador del segundo polipéptido de un CAR concreto; por ejemplo, los dominios moduladores primero y segundo pueden diferir entre sí en cuanto a su longitud en menos de 10 aminoácidos o menos de 5 aminoácidos. En algunos casos, los dominios moduladores primero y segundo pueden tener la misma longitud.

Un dominio modulador adecuado para su inclusión en el primer y el segundo polipéptido de un CAR concreto puede tener una longitud de aproximadamente 30 aminoácidos a aproximadamente 70 aminoácidos (aa), por ejemplo, un dominio modulador puede tener una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de

aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa. En otros casos, el dominio modulador puede tener una longitud de aproximadamente 70 aa a aproximadamente 100 aa, de aproximadamente 100 aa a aproximadamente 200 aa o de más de 200 aa.

Los dominios coestimuladores adecuados para su uso en un CAR de la presente divulgación son generalmente polipéptidos procedentes de receptores. En algunas realizaciones, los dominios coestimuladores se homodimerizan. Un dominio coestimulador concreto puede ser una porción intracelular de una proteína transmembrana (es decir, el dominio coestimulador puede proceder de una proteína transmembrana). Los ejemplos no limitantes de polipéptidos coestimuladores adecuados incluyen, pero sin limitación, 4-1BB (CD137), CD28, ICOS, OX-40, BTLA, CD27, CD30, GITR y HVEM.

En algunos casos, el dominio coestimulador del primer polipéptido de un CAR concreto tiene sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos que el dominio coestimulador del segundo polipéptido del CAR. Por ejemplo, en algunos casos, el dominio coestimulador del primer polipéptido de un CAR comprende una secuencia de aminoácido que es al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 %, al menos aproximadamente un 99 % o un 100 %, idéntica a la secuencia de aminoácidos del dominio coestimulador en el segundo polipéptido del CAR. El dominio coestimulador del primer polipéptido de un CAR concreto puede tener sustancialmente la misma longitud que el dominio coestimulador del segundo polipéptido de un CAR concreto; por ejemplo, los dominios coestimuladores primero y segundo pueden diferir entre sí en cuanto a su longitud en menos de 10 aminoácidos o menos de 5 aminoácidos. En algunos casos, los dominios coestimuladores primero y segundo pueden tener la misma longitud.

Un dominio coestimulador adecuado para su inclusión en el primer y el segundo polipéptido de un CAR concreto puede tener una longitud de aproximadamente 30 aminoácidos a aproximadamente 70 aminoácidos (aa), por ejemplo, un dominio coestimulador puede tener una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa. En otros casos, el dominio coestimulador puede tener una longitud de aproximadamente 70 aa a aproximadamente 100 aa, de aproximadamente 100 aa a aproximadamente 200 aa o de más de 200 aa.

En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana 4-1BB (también conocida como TNFRSF9; CD137; 4-1BB; CDw137; ILA; etc.). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL (SEQ ID NO: 24). En algunas de estas realizaciones, el dominio coestimulador tanto del primer polipéptido como del segundo tiene una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa.

En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana CD28 (también conocida como Tp44). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: FWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO: 63). En algunas de estas realizaciones, el dominio coestimulador tanto del primer polipéptido como del segundo tiene una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa.

En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana ICOS (también conocida como AILIM, CD278 y CVID1). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL (SEQ ID NO: 64). En algunas de estas realizaciones, el dominio coestimulador tanto del primer polipéptido como del segundo tiene una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de

aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa.

- 5 En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana OX-40 (también conocida como TNFRSF4, RP5-902P8.3, ACT35, CD134, OX40, TXGP1L). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la
- 10 siguiente secuencia de aminoácidos: RRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO: 65). En algunas de estas realizaciones, el dominio coestimulador tanto del primer polipéptido como del segundo tiene una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de
- 15 aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa.

- En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana BTLA (también conocida como BTLA1 y CD272). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos
- 20 aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos:

CCLRRHQGKQNELSDTAGREINLVDAHLKSEQTEASTRQNSQVLLSETGIYDNDPD
LCFRMQEGSEVYSNPCLEENKPGIVYASLNHNSVIGPNSRLARNVKEAPTEYASICVR
S (SEQ ID NO:66).

- 25 En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana CD27 (también conocida como S152, T14, TNFRSF7 y Tp55). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de
- 30 aminoácidos: HQRRKYRSNKGESPVPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (SEQ ID NO: 67). En algunas de estas realizaciones, el dominio coestimulador tanto del primer polipéptido como del segundo tiene una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de
- 35 aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa.

- En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana CD30 (también conocida como TNFRSF8, D1S166E y Ki-1). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos
- 40 aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a
- 45 aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 160 aa o de aproximadamente 160 aa a aproximadamente 185 aa de la siguiente secuencia de aminoácidos:

RRACRKIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPPRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMS
QPLMETCHSVGAAYLESLPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKA
DTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSV
EEEGKEDPLPTAASGK (SEQ ID NO:68).

- 50 En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana GITR (también conocida como TNFRSF18, RP5-902P8.2, AITR, CD357 y GITR-D). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de
- 55 aminoácidos: HIWQLRSQCMWPRETQLLLEVPPSTEDARSCQFPPEERGERSAEEKGRLGLDWV (SEQ ID NO: 69).

En algunas de estas realizaciones, el dominio coestimulador tanto del primer polipéptido como del segundo tiene una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa.

En algunos casos, el dominio coestimulador procede de una porción intracelular de la proteína transmembrana HVEM (también conocida como TNFRSF14, RP3-395M20.6, ATAR, CD270, HVEA, HVEM, LIGHTR y TR2). Por ejemplo, un dominio coestimulador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: CVKRRKPRGDVVKVIVSVQRKRQEAGEATVIEALQAPPDVTTVAVEETIPSFTGRSPNH (SEQ ID NO: 70). En algunas de estas realizaciones, el dominio coestimulador tanto del primer polipéptido como del segundo tiene una longitud de aproximadamente 30 aa a aproximadamente 35 aa, de aproximadamente 35 aa a aproximadamente 40 aa, de aproximadamente 40 aa a aproximadamente 45 aa, de aproximadamente 45 aa a aproximadamente 50 aa, de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 55 aa, de aproximadamente 55 aa a aproximadamente 60 aa, de aproximadamente 60 aa a aproximadamente 65 aa o de aproximadamente 65 aa a aproximadamente 70 aa.

Pares de dímero

Los pares de dímero adecuados para su uso en un CAR concreto incluyen pares de unión a dimerizador. Los pares de unión a dimerizador adecuados para su uso en un CAR de la presente divulgación son, en algunas realizaciones, polipéptidos que se unen a un sitio diferente de la misma molécula (citada en el presente documento como "dimerizador"). En presencia de un dimerizador, ambos miembros del par de unión al dimerizador se unen a un sitio diferente del dimerizador y, por lo tanto, se sitúan próximos entre sí. En algunas realizaciones, la unión al dimerizador es reversible. En algunas realizaciones, la unión al dimerizador es irreversible. En algunas realizaciones, la unión al dimerizador es no covalente. En algunas realizaciones, la unión al dimerizador es covalente.

Otros pares de dímero adecuados para su uso incluyen pares de unión a dimerizador que dimerizan tras la unión de un primer miembro de un par de dímeros a un agente de dimerización, induciendo el agente de dimerización un cambio conformacional en el primer miembro del par de dímeros y permitiendo este cambio conformacional que el primer miembro del par de dímeros se una (covalente o no covalentemente) a un segundo miembro del par de dímeros.

Otros pares de dímeros adecuados para su uso incluyen pares de dímeros en los que la exposición a la luz (por ejemplo, luz azul) induce la dimerización del par de dímeros.

Independientemente del mecanismo, el par de dímeros dimerizará tras exponerlo a un agente que induzca la dimerización, siendo el agente en algunos casos una molécula pequeña o, en otros casos, luz. Por lo tanto, por simplicidad, la descripción a continuación referente a los "pares de unión a dimerizador" incluye pares de dímeros que dimerizan independientemente del mecanismo.

Los ejemplos no limitantes de dímeros adecuados (por ejemplo, pares de unión a dimerizador) incluyen, pero sin limitación:

- a) proteína de unión a FK506 (FKBP) y FKBP;
- b) FKBP y la subunidad catalítica A de la calcineurina (CnA);
- c) FKBP y ciclofilina;
- d) FKBP y proteína asociada a rapamicina de FKBP (FRB);
- e) girasa B (GyrB) y GyrB;
- f) dihidrofolato reductasa (DHFR) y DHFR;
- g) DmrB y DmrB;
- h) PYL y ABI;
- i) Cry2 y CIB1; y
- j) GAI y GID1.

Un primer o un segundo miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) de un CAR concreto puede tener una longitud de aproximadamente 50 aminoácidos a aproximadamente 300 aminoácidos o más; por ejemplo, un primer o un segundo miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) de un CAR concreto puede tener una longitud de aproximadamente 50 aa a aproximadamente 100 aa, de aproximadamente 100 aa a aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 200 aa, de aproximadamente 200 aa a aproximadamente 250 aa, de aproximadamente 250 aa a aproximadamente 300 aa o de más de 300 aa.

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) de un CAR concreto procede de FKBP. Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: CVKRRKPRGDVVKVIVSVQRKRQEAGEATVIEALQAPPDVTTVAVEETIPSFTGRSPNH (SEQ ID NO: 70).

al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos:

MGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQE
VIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ
ID NO:12).

En algunos casos, un miembro de un par de unión a dimerizador de un CAR concreto procede de la subunidad catalítica A de la calcineurina (también conocida como PPP3CA; CALN; CALNA; CALNA1; CCN1; CNA1; PPP2B; subunidad catalítica CAM-PRP; calcineurina A alfa; isoforma alfa de la subunidad A de calcineurina dependiente de calmodulina; proteína fosfatasa 2B, subunidad catalítica, isoforma alfa; etc.). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos (dominio PP2Ac):

LEESVALRIITEGASILRQEKNLLDIDAPVTVCEDIHGQFFDLMKLFEVGGSPANTRY
LFLGDYVDRGYFSIECVLYLWALKILYPKTLFLLRGNHECRHLTEYFTFKQECKIKY
SERVYDACMDAFDCLPLAALMNQQFLCVHGGLSPEINTLDDIRKLDRFKEPPAYGP
MCDILWSDPLEDFGNEKTQEHFTHNTVRGCSYFYSYPVCEFLQHNNLLSILRAHE
AQDAGYRMYRKSQTTGFPSLITIFSAPNYLDVYNNKAAVLKYENNVNMNIRQFNCSP
HPYWLPNFM (SEQ ID NO:71).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de ciclofilina (también conocida como ciclofilina A, PPIA, CYPA, CYPH, PPIasa A, etc.). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos:

MVNPTVFFDIAVDGEPLGRVSFELFADKVPKTAENFRALSTGEKGFGYKGSCHFRII
PGFMCQGGDFTRHNGTGGKSIYGEKFEDENFILKHTGPGILSMANAGPNTNGSQFFI
CTAKTEWLDGKHVVFGKVKEGMNIVEAMERFGSRNGKTSKKITIADCGQLE (SEQ
ID NO:72).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de MTOR (también conocido como proteína asociada a rapamicina-FKBP; proteína de unión a FK506 12-proteína asociada a rapamicina 1; proteína de unión a FK506 12-proteína asociada a rapamicina 2; proteína de unión a FK506 12-proteína asociada al complejo de rapamicina 1; FRAP; FRAP1; FRAP2; RAFT1; y RAPT1). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos (también conocido como "Frb": Fkbp-dominio de unión a rapamicina):

MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQA
YGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK (SEQ ID NO:14).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de GyrB (también conocido como subunidad B de ADN girasa). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 200 aminoácidos (aa), de aproximadamente 200 aa a

aproximadamente 300 aa, de aproximadamente 300 aa a aproximadamente 400 aa, de aproximadamente 400 aa a aproximadamente 500 aa, de aproximadamente 500 aa a aproximadamente 600 aa, de aproximadamente 600 aa a aproximadamente 700 aa o de aproximadamente 700 aa a aproximadamente 800 aa, de la siguiente secuencia de aminoácidos de GyrB de *Escherichia coli* (o con la secuencia de la subunidad B de ADN girasa de cualquier organismo):

MSNSYDSSSIKVLKGLDAVRKRPGMYIGDTHDGLHMHVFEVDNAIDEALAGH
CKEIIVTIHADNSVSVQDDGRGIPTGIHPEEGVSAAEVIMTVLHAGGKFDDNSYKVS
GGLHGVGVSVVNALSQKLELVIQREGKIHRQIYEHGVQPAPLAVTGETEKTGTMTV
RFWPSLETFTNVTEFEYEILAKRLRELSFLNSGVSIIRLDKRDGKEDHFHYEGGIKAF
VEYLNKNKTPIHNPIFYFSTEKDGIGVEVALQWNDGFQENIYCFTNNIPQRDGGTHL
AGFRAAMTRTLNAYMDKEGYSKKAKVSATGDDAREGLIAVSVKVPDPKFSSQT
KDKLVSSEVKSASVEQQMNELLA EYLLNPTDAKIVVGKIIDAARAREARRAREM
TRRKALDLAGLPGKLADQCERDPALSELVLEVGDSAGGSAKQGRNRKNQAILPL
KKGILNVEKARFDKMLSSQEVATLITLALGCGIGRDEYNPDKLRYHSIIIMTDADVDG
SHIRTLTFFYRQMPEIVERGHVYIAQPPLYKVKKGKQEYIKDDEAMDQYQISIA
LDGATLHTNASAPALAGEALEKLVEYNATQKMINRMERRYPKAMLKELIYQPTL
TEADLSDEQTVTRWVNALVSELNDKEQHGSQWKFDVHTNAEQNLFEPIVRVRTHG
VDTDYPLDHEFITGGEYRRICLTGKELRGLLEEDAFIERGERRQPVASFEQALDWLV
KESRRGLSIQRYKGLGEMNPEQLWETMDPESRRMLRVTVKDAIAADQLFTTLMG DAVEPRRAFIEENALKAANIDI
(SEQ ID NO: 73). En algunos casos, un miembro de un par de unión a dimerizador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de los aminoácidos 1-220 de la secuencia de aminoácidos de GyrB citada anteriormente de *Escherichia coli*.

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de DHFR (también conocido como dihidrofolato reductasa, DHFRP1 y DYR). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos:

MVGS LN CIVAVSQNMGIGKNGDLPWPLRNEFRYFQRM TTTSSVEGKQNLVIMGK
KTWFSIPEKNRPLKGRINLVLSRELKEPPQGAHFLSRSLDDALKLTEQPELANKVDM
VWIVGGSSVYKEAMNHPGHLKLFVTRIMQDFESDTFFPEIDLEKYKLLPEYPGVLS
DVQEEKGIKYKFEVYEKND (SEQ ID NO:74).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede del dominio de unión a DmrB (es decir, el dominio de homodimerización DmrB). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos:

MASRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLLEDGKKVDSSRDRNKPFKFMLG
KQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKE
(SEQ ID NO:75).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de una proteína PYL (también conocido como receptor del ácido abscísico y como RCAR). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador concreto puede proceder de proteínas tales como aquellas de *Arabidopsis thaliana*: PYR1, RCAR1 (PYL9), PYL1, PYL2, PYL3, PYL4, PYL5, PYL6, PYL7, PYL8 (RCAR3), PYL10, PYL11, PYL12, PYL13. Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos:

PYL10:

MNGDETKKVESEYIKKHRRHELVESQCSSTLVKHIKAPLHLVWSIVRRFDEPQKYK
PFISRCVVQGKKLEVGSVREVDLKSGLPATKSTEVLEILDDNEHILGIRIVGGDHRLK
NYSSTISLHSETIDGKTGTLAIESFVVDVPEGNTKEETCFFVEALIQCNLSLADVTE
RLQAESMEKKI (SEQ ID NO:76).

PYL11:

METSQKYHTCGSTLVQTIDAPLSLVWSILRRFDNPQAYKQFVKTCNLSSGDGGEGS
VREVTVVSGLPAEFSRERLDELDDESHVMMISIIGGDHRLVNYRSKTMAFVAADTE
EKTVVVESYVVDVPEGNSEEETTSFADTIVGFNLKSLAKLSERVAHLKL (SEQ ID
NO:77)

PYL12:

MKTSQEQHVCGSTVVQTINAPLPLVWSILRRFDNPKTFKHVKTCKLRSGDGGEGS
VREVTVVSDLPASFSLERLDELDDESHVMVISIIGGDHRLVNYQSKTTVFVAAEEEEK
TVVVESYVVDVPEGNTTEEETTLFADTIVGCNLRSLAKLSEKMMELT (SEQ ID
NO:78).

PYL13:

MESSKQKRCRSSVETIEAPLPLVWSILRSFDKPQAYQRFVKSCTMRSGGGGGKGG
EGKGSVRDVTLVSGFPADFSTERLEELDDESHVMVVSIIIGGNHRLVNYKSKTKVVA
SPEDMAKKTVVVESYVVDVPEGTSEEDTIFFVDNIIRYNLTSLAKLTKKMMK (SEQ
ID NO:79).

PYL1:

MANSESSSPVNEEENSQRISTLHHQTMPSDLTQDEFTQLSQSIAEFHTYQLGNGRC
SSLLAQRIHAPPETVWSVVRFRDPQIYKHFIKSCNVSEDFEMRVGCTRDVNVISGL
PANTSRRERLDLLDDRRVTGFSITGGEHRLRNYKSVTTVHRFEKEEEEEERIWTVVLE
SYVVDVPEGNSEEDTRLFADTVIRLNLQKLASITEAMNRNNNNNNSSQVR (SEQ ID
NO:80).

PYL2:

MSSSPAVKGLTDEEQKTLEPVIKTYHQFEPDPTTCTSLITQRIHAPASVWVPLIRRFD
NPERYKHFVKRCRLISGDGDVGSVREVTVISGLPASTSTERLEFVDDDHRVLSFRVV
GGEHRLKNYKSVTSVNEFLNQDSGKVYTVVLESYTVDIPEGNTEEDTKMFVDTVV
KLNLQKLGAATSAPMHDDE (SEQ ID NO:81).

PYL3:

MNLAPIHDPSSSSSTTTSSSTPYGLTKDEFSTLDSIIRTHHTFPRSPNTCTSLIAHRVDA
PAHAIWRFVRDFANPNKYKHFIKSTIRVNGNGIKEIKVGTIREVSVVSGLPASTSVE
ILEVLDEEKRILSFRVLGGEHRLNNYRSVTSVNEFVVLEKDKKKRVYSVVLESYIVD
IPQGNTEEDTRMFVDTVVKSNLQNLAVISTASPT (SEQ ID NO:82).

PYL4:

MLAVHRPSSAVSDGDSVQIPMMIASFQKRFPSLSRDSTAARFHTHEVGPNQCCSAVI
QEISAPISTVWSVVRFDNPQAYKHFLKSCSVIGGDGDNVGLRQVHVVSGLPAAS
STERLDILDDERHVISFSVVGGDHRLSNYRSVTTLHPSPISGTVVVESYVVDVPPGNT
KEETCDFVDVIVRCNLQSLAKIAENTA AESKKKMSL (SEQ ID NO:83).

PYL5:

MRSPVQLQHGS DATNGFHTLQPHDQTDGPIKRVCLTRGMHVPEHVAMHHTHDVG
PDQCCSSVVQMIHAPPESVWALVRRFDNPKVYKNFIRQCRIVQGDGLHVGDREV
MVVSGLPAVSSTERLEILDEERHVISFSVVGGDHRLKNYRSVTTLHASDDEGTVVV
ESYIVDVPPGNT EETLSFVD TIVRCNLQSLARSTNRQ (SEQ ID NO:84).

PYL6:

MPTSIQFQRSSTAAEAANATVRNYPHHHQKQVQKVS LTRGMADVPEHVELSHTHV
VGPSQCF SVVVQDVEAPVSTVWSILSRFEHPQAYKH FVKSCHVVIGD GREVGSVRE
VRVVSGLPAAFSLERLEIMDDDRHVISFSVVGGDHRLMNYKSVTTVHESEEDSDGK
KRTRVVESYVVDVPAGNDKEETCSFADTIVRCNLQSLAKLAENTSKFS (SEQ ID
NO:85).

PYL7:

MEMIGGDDTDTEMYGALVTAQSLRLRHLHHCRENQCTSVLVKYIQAPVHLVWSL
VRRFDQPQKYKPFISRCTVNGDPEIGCLREVN VKSGLPATTSTERLEQLDDEEHILGI
NIIGGDHRLKNYSSILTVHP EMIDGRSGTMVMESFVVDVPQGNTKDDTCYFVESLIK
CNLKSLACV SERLAAQDITNSIATFCNASNGYREKNHTETNL (SEQ ID NO:86).

PYL8:

MEANGIENLTNPNQEREFIRRHKKHELVDNQCSSTLVKHINAPVHIVWSLVRRFDQ
PQKYKPFISRCVVKGNMEIGTVREVDVKSGLPATRSTERLELLDDNEHILSIRIVGGD
HRLKNYSSII SLHPETIEGRIGTLVIESFVVDVPEGNTKDETCYFVEALIKCNLKSLAD
ISERLAVQDTTESRV (SEQ ID NO:87).

PYL9:

MMDGVEGGTAMYGGLETQYVVRTHHQHLCRENQCTSALVKHIKAPLHLVWSLV
RRFDQPQKYKPFVSRCTVIGDPEIGSLREVVNKSGLPATTSTERLELLDDEEHILGIKI
IGGDHRLKNYSSILTVHPEIIEGRAGTMVIESFVVDVPQGNTKDETCYFVEALIRCNL
KSLADVSRERLASQDITQ (SEQ ID NO:88).

PYR1:

MPSELTPEERSELKNSIAEFHTYQLDPGSCSSLHAQRIHAPPELVWSIVRRFDKPQTY
KHFIKSCSVEQNFEMRVGCTRDVIVISGLPANTSTERLDILDDERRVTGFSIIGGEHR
LTNYKSVTTVHRFEKENRIWTVVLESYVVDMPEGNSEDDTRMFADTVVKLNLQKL
5 ATVAEAMARNSGDGSQSQT (SEQ ID NO:89).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de una proteína ABI (también conocida como insensible al ácido abscísico). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador concreto puede proceder de proteínas tales como aquellas de *Arabidopsis thaliana*: ABI1 (también conocida como INSENSIBLE AL ÁCIDO ABSCÍSICO 1, Proteína fosfatasa 2C 56, AtPP2C56, P2C56 y PP2C ABI1) y/o ABI2 (también conocida como P2C77, Proteína fosfatasa 2C 77, AtPP2C77, INSENSIBLE AL ÁCIDO ABSCÍSICO 2, Proteína fosfatasa 2C ABI2 y PP2C ABI2). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 160 aa, de aproximadamente 160 aa a aproximadamente 170 aa, de aproximadamente 170 aa a aproximadamente 180 aa, de aproximadamente 180 aa a aproximadamente 190 aa o de aproximadamente 190 aa a aproximadamente 200 aa de cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos:

ABI1:

25 MEEVSPAIAAGPFRPFSETQMDFTGIRLGKGYCNNQYSNQDSENGDLMVSLPETSSCS
VSGSHGSESERKVLISRINSPNLNMKESAAADIVVVDISAGDEINGS DITSEKKMISRT
ESRSLFEFKSVPLYGFTSICGRRPEMEDAVSTIPRFLQSSSGSMLDGRFDPQSAAHFF
GVYDGHGGSQVANYCRMHLALAEIEAKEKPMLCDGDTWLEKWKKALFNSFLR
VDSEIESVAPETVGSTSVVAVVFP SHIFVANCGDSRAVLCRGKTALPLSVDHKPDRE
DEAARIEAAGGKVIQWNGARVFGVLAMSR SIGDRYLKPSIIPDPEVTAVKRVKEDD
CLILASDGVWDVMTDEEACEMARKRILLWHKKNVAGDASLLADERRKEGKDPA
AMSAAEYLSKLAIQRGSKDNISVVVVDLKPRRKLKSKPLN (SEQ ID NO:90).

ABI2:

MDEVSPAVAVPFRPFTDPHAGLRGYCNGESRVTLPESSCSGDGAMKDSSEINTRQ
 DSLTSSSSAMAGVDISAGDEINGSDEFDPFSMNQSEKKVLSRTERSLFEFKCVPLY
 GVTSICGRPEMEDSVSTIPRFLQVSSSSLLDGRVTNGFNPHLSAHFFGVYDGHGGS
 QVANYCRERMHLALTEEIVKEKPEFCDDGTWQEKWKKALFNSFMRVDSEIETVAH
 APETVGSTSVVAVVFPTHIFVANCGDSRAVLCRGKTPLALSVDHKPDRDDEAARIE
 AAGGKVIRWNGARVFGVLAMSRSIGDRYLKPSVIPDPEVTSVRRVKEDDCLILASD
 GLWDVMTNEEVCDLARKRILLWHKKNAMAGEALLPAEKRGEKGDPAAMSAAEY
 LSKMALQKGSKDNISVVVVDLKGIRKFKSKSLN (SEQ ID NO:91).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de una proteína Cry2 (también conocida como criptocromo 2). Por ejemplo, un miembro de un dímero concreto (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) puede proceder de proteínas Cry2 de cualquier organismo (por ejemplo, una planta) tal como, pero sin limitación, aquellas de *Arabidopsis thaliana*. Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 160 aa, de aproximadamente 160 aa a aproximadamente 170 aa, de aproximadamente 170 aa a aproximadamente 180 aa, de aproximadamente 180 aa a aproximadamente 190 aa o de aproximadamente 190 aa a aproximadamente 200 aa de cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos:

Cry2 (*Arabidopsis thaliana*)

MKMDKKTIVWFRDLRIEDNPALAAAHEGSVFPVFIWCPEEEGQFYPPGRASRWW
 MKQSLAHLSQLKALGSDTLIKTHNTISAILDCIRVTGATKVVFNHLYDPVSLVRD
 HTVKEKLVERGISVQSYNGDLLYEPWEIYCEKGKPFSTFNSYWKCLDMSIESVML
 PPPWRLMPITAAAEAIWACSIIEELGLENEAEKPSNALLTRAWSPGWSNADKLLNEFI
 EKQLIDYAKNSKKVVGNSTSLLSPYLHFGEISVRHVFQCARMKQIIWARDKNSEGE
 ESADLFLRGIGLREYSRYICFNFPFTHEQSLLSHLRFFPWDADVDKFKAWRQGRGTG
 YPLVDAGMRELWATGWMHNRIRVIVSSFAVKFLLLPWKWGMKYFWDTLDDADL
 ECDILGWQYISGSIPDGHELDRLDNPALQGAKYDPEGEYIRQWLPELARLPTEWIIHH
 PWDAPLTVLKASGVELGTNYAKPIVDIDTARELLAKAISRTREAQIMIGAAPDEIVA
 DSFEALGANTIKEPGLCPSVSSNDQQVPSAVRYNGSKRVKPEEEEEERDMKKSRGFD
 ERELFTAESSSSSSVFFVSQSCSLASEGKNLEGIQDSSDQITTSLGKNGCK (SEQ ID
 NO:92).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de la proteína CIB1 de *Arabidopsis thaliana* (también conocida como factor de transcripción bHLH63). Por ejemplo, un dímero adecuado (por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador) puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de

aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 160 aa, de aproximadamente 160 aa a aproximadamente 170 aa, de aproximadamente 170 aa a aproximadamente 180 aa, de aproximadamente 180 aa a aproximadamente 190 aa o de aproximadamente 190 aa a aproximadamente 200 aa de la siguiente secuencia de aminoácidos:

5

MNGAIGDLLLLNFPDMSVLERQRAHLKYLNPFTDSPLAGFFADSSMITGGEMDSYL
STAGLNLPMMYGETTVEGDSRLSISPETTLGTGNFKKRKFDTETKDCNEKKKKMT
MNRDDLVEEGEEEEKSKITEQNGSTKSIKKMKHKAKKEENNFSNDSSKVTKELEKT
DYIHVRARRGQATDSHSIAERVREKISERMKFLQDLVPGCDKITGKAGMLDEIINY
VQSLQRQIEFLSMKLAIVNPRPDFDMDIDFAKEVASTPMTVVPSPPEMVLSGYSEM
VHSGYSSEMVNSGYLHVNPMPQQVNTSSDPLSCFNNGEAPSMWDSHVQNLVGNLGV
V (SEQ ID NO:93).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de la proteína GAI de *Arabidopsis thaliana* (también conocida como insensible al ácido giberélico y proteína GAI DELLA). Por ejemplo, un miembro de un par de unión a dimerizador adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 160 aa, de aproximadamente 160 aa a aproximadamente 170 aa, de aproximadamente 170 aa a aproximadamente 180 aa, de aproximadamente 180 aa a aproximadamente 190 aa o de aproximadamente 190 aa a aproximadamente 200 aa de la siguiente secuencia de aminoácidos:

10

15

20

MKRDHHHHHHQDKKTMNNNEEDDGNGMDELLAVLGKVRSEMAADVAQKLEQ
LEVMMNSNVQEDDLSQLATETVHYNPAELYTWLDSMLTDLNPPSSNAEYDLKAIPG
DAILNQFAIDSASSSNQGGGGDTYTTNKRLKCSNGVVETTTATAESTRHVVLVDSQ
ENGVRLVHALLACAEAVQKENLTVAEALVKQIGFLAVSQIGAMRKVATYFAEALA
RRIYRLSPSQSPIDHSLSDTLQMHFYETCPYLKFAHFTANQAILEAFQGGKRVHVIDF
SMSQGLQWPALMQALALRPGGPPVFRLTGIGPPAPDNFDYLHEVGCKLAHLAEAIH
VEFEYRGFVANTLADLDASMLELRPSEIESVAVNSVFELHKLGRPGAIDKVLGVV
NQIKPEIFTVVEQESNHNSPIFLDRFTESLHYYSTLFDSLEGVPSGQDKVMSEVYLKG
QICNVVACDGPDRVERHETLSQWRNRFGSAGFAAAHIGSNAFKQASMLLALFNGG
EGYRVEESDGCLMLGWHTRPLIATSAWKLSTN (SEQ ID NO:94).

En algunos casos, un miembro de un dímero (por ejemplo, un par de unión a dimerizador) procede de una proteína GID1 de *Arabidopsis thaliana* (también conocida como receptor GID1 de giberelina). Por ejemplo, un miembro del dímero adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 160 aa, de aproximadamente 160 aa a aproximadamente 170 aa, de aproximadamente 170 aa a aproximadamente 180 aa, de aproximadamente 180 aa a aproximadamente 190 aa o de aproximadamente 190 aa a aproximadamente 200 aa de cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos:

25

30

35

GID1A:

MAASDEVNLIESTRVVPLNTWVLISNFKVAYNILRRPDGTFNRHLAEYLDKVTAN
ANPVDGVFSFDVLIDRRINLLSRVYRPAYADQEPPSILDLEKPVDGDIVPVILFFHG
GSFAHSSANSIAIYDTLCRRLVGLCKCVVSVNYRRAPENPYPCAYDDGWIALNWW
NSRSWLKSKKDSKVHIFLAGDSSGGNIAHNVALRAGESGIDVLGNILLNPMFGGNE
RTESEKSLDGKYFVTVRDRDWWYKAFLEPEDREHPACNPFSPRGKSLEGVSFPKS
LVVVAGLDLIRDWQLAYAEGKKAGQEVKLMHLEKATVGFYLLPNNNHFFHNVM
DEISAFVNAEC (SEQ ID NO:95).

GID1B:

5

MAGGNEVNLINECKRIVPLNTWVLISNFKLAYKVLRRPDGSFNRLAEFLDRKVPA
NSFPLDGVFSFDHVDSTTNLLTRIYQPASLLHQTRHGTLELTKPLSTTEIVPVLIFFHG
GSFTHSSANSIAIYDTFCRRLVTICGVVSVVDYRRSPEHRYPCAYDDGWNALNWW
KSRVWLQSGKDSNVYVYLAGDSSGGNIAHNVAVRATNEGVKVLGNILLHPMFGG
QERTQSEKTLDGKYFVTIQDRDWWYRAYLPEGEDRDHPACNPFGRGQSLKGVNF
PKSLVVVAGLDLVQDWQLAYVDGLKKTGLEVNLLYLKQATIGFYFLPNNDHFHCL
MEELNKFVHSIEDSQSKSSPVLLTP (SEQ ID NO:96)

GID1C:

10

MAGSEEVNLIESTKTVVPLNTWVLISNFKLAYNLLRRPDGTFNRHLAEFLDRKVPAN
ANPVNGVFSFDVIIDRQTNLLSRVYRPADAGTSPSITDLQNPVDGEIVPVIVFFHGG
FAHSSANSIAIYDTLCRRLVGLCGAVVSVNYRRAPENRYPCAYDDGWAVLKWVN
SSSWLRSKKDSKVRIFLAGDSSGGNIVHNVAVRATESRIDVLGNILLNPMFGGTERT
ESEKRLDGKYFVTVRDRDWWYRAFLPEGEDREHPACSPFGPRSKSLEGLSFPSLV
VVAGLDLIQDWQLKYAEGKKAGQEVKLLYLEQATIGFYLLPNNNHFFHTVMDEIA
AFVNAECQ (SEQ ID NO:97).

Dimerizadores

15

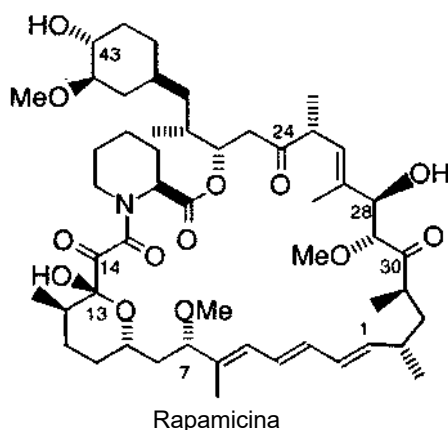
Los dimerizadores ("agentes de dimerización") que pueden posibilitar la dimerización de un primer miembro de un par de unión a dimerizador y un segundo miembro de un par de unión a dimerizador incluyen, por ejemplo (encontrándose el dimerizador entre paréntesis a continuación del par de unión a dimerizador):

20

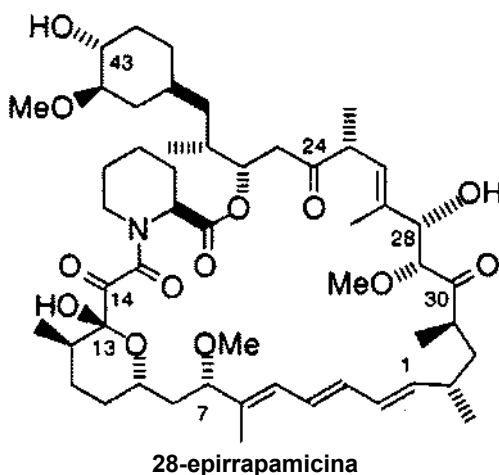
- a) FKBP y FKBP (rapamicina);
- b) FKBP y CnA (rapamicina);
- c) FKBP y ciclofilina (rapamicina);
- d) FKBP y FRG (rapamicina);
- e) GyrB y GyrB (coumermicina);
- 25 f) DHFR y DHFR (metotrexato);
- g) DmrB y DmrB (AP20187);
- h) PYL y ABI (ácido abscísico);
- i) Cry2 y CIB1 (luz azul); y
- j) GAI y GID1 (giberelina).

Como se ha indicado anteriormente, la rapamicina puede servir como dimerizador. Como alternativa, puede usarse un derivado o análogo de la rapamicina. Véase, por ejemplo, WO96/41865; WO 99/36553; WO 01/14387; y Ye *et al.* (1999) Science 283:88-91. Por ejemplo, los análogos, homólogos, derivados y otros compuestos relacionados estructuralmente con la rapamicina ("rapálogos") incluyen, entre otros, variantes de la rapamicina que tienen una o más de las siguientes modificaciones en relación con la rapamicina: desmetilación, eliminación o reemplazo del metoxi en C7, C42 y/o C29; eliminación, derivatización o reemplazo del hidroxilo en C13, C43 y/o C28; reducción, eliminación o derivatización de la cetona en C14, C24 y/o C30; reemplazo del anillo de pipicolato de 6 miembros por un anillo de prolilo de 5 miembros; una sustitución alternativa en el anillo de ciclohexilo o el reemplazo del anillo de ciclohexilo por un anillo de ciclopentilo sustituido. Se ha presentado información adicional en, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.525.610; 5.310.903 5.362.718; y 5.527.907. Se ha descrito la epimerización selectiva del grupo hidroxilo C-28; véase, por ejemplo, el documento WO 01/14387. Los agentes de dimerización sintéticos adicionales adecuados para su uso como alternativa a la rapamicina incluyen aquellos descritos en la Publicación de Patente de los Estados Unidos n.º 2012/0130076.

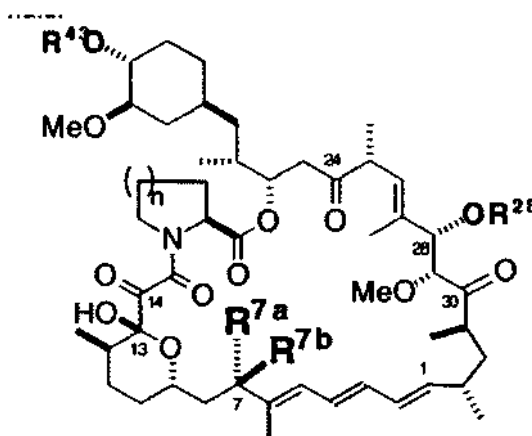
La rapamicina tiene la estructura:



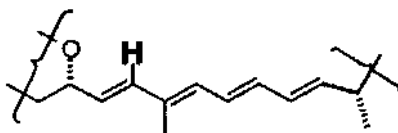
Los rapálogos adecuados incluyen, por ejemplo,



También resulta útil como rapálogo un compuesto de fórmula:



donde n es 1 o 2; R^{43} y R^{28} son independientemente H o un resto alifático o de acilo sustituido o sin sustituir; uno de R^{7a} y R^{7b} es H y el otro es halo, R^A , OR^A , SR^A , $-OC(O)R^A$, $-OC(O)NR^A R^B$, $-NR^A R^B$, $-NR^B C(OR)R^A$, $NR^B C(O)OR^A$, $-NR^B SO_2 R^A$ o $NR^B SO_2 NR^A R^B$; o R^{7a} y R^{7b} , tomados conjuntamente, son H en el resto de tetraeno:



donde R^A es H o un resto alifático, heteroalifático, de arilo o de heteroarilo y donde R^B y $R^{B'}$ son independientemente H, OH o un resto alifático, heteroalifático, de arilo o de heteroarilo sustituido o sin sustituir.

Como se ha indicado anteriormente, la coumermicina puede servir como agente dimerizador. Como alternativa, puede usarse un análogo de la coumermicina. Véase, por ejemplo, Farrar *et al.* (1996) Nature 383:178-181; y la patente de los Estados Unidos n.º 6.916.846.

Como se ha indicado anteriormente, en algunos casos, el agente dimerizador es metotrexato, por ejemplo, un dímero de metotrexato homobifuncional no citotóxico. Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos n.º 8.236.925.

Dominio de señalización intracelular

Los dominios de señalización intracelular adecuados para su uso en un CAR de la presente divulgación incluyen cualquier dominio de señalización deseado que proporcione una señal distinta y detectable (por ejemplo, producción aumentada de una o más citocinas por parte de la célula; cambio en la transcripción de un gen diana; cambio en la actividad de una proteína; cambio en el comportamiento celular, por ejemplo, muerte celular; proliferación celular; diferenciación celular; supervivencia celular; modulación de respuestas de señalización celular; etc.) en respuesta a la activación del CAR (es decir, activado por un antígeno y un agente de dimerización). En algunas realizaciones, el dominio de señalización intracelular incluye al menos uno (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, etc.) motivos ITAM como se describe más adelante. En algunas realizaciones, el dominio de señalización intracelular incluye cadenas de señalización de tipo DAP10/CD28. En algunas realizaciones, el dominio de señalización intracelular está unido de manera no covalente al CAR unido a la membrana, pero en cambio, se difunde en el citoplasma.

ITAM

Los dominios de señalización intracelular adecuados para su uso en un CAR de la presente divulgación incluyen polipéptidos de señalización intracelular que contienen un motivo de activación en inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). Un motivo ITAM es YX_1X_2L/I , donde X_1 y X_2 son independientemente cualquier aminoácido (SEQ ID NO: 130). En algunos casos, el dominio de señalización intracelular de un CAR concreto comprende 1, 2, 3, 4 o 5 motivos ITAM. En algunos casos, en un dominio de señalización intracelular, se repite un motivo ITAM dos veces, estando separadas entre sí las apariciones primera y segunda del motivo ITAM por de 6 a 8 aminoácidos, por ejemplo, $(YX_1X_2L/I)(X_3)_n(YX_1X_2L/I)$, donde n es un número entero de 6 a 8 y cada uno de los 6-8 X_3 pueden ser cualquier aminoácido (SEQ ID NO: 131). En algunos casos, el dominio de señalización intracelular de un CAR concreto comprende 3 motivos ITAM.

Un dominio de señalización intracelular adecuado puede ser una porción que contiene un motivo ITAM que procede de un polipéptido que contiene un motivo ITAM. Por ejemplo, un dominio de señalización intracelular adecuado puede

ser un dominio que contiene un motivo ITAM procedente de una proteína que contiene cualquier motivo ITAM. Por lo tanto, no es necesario que un dominio de señalización intracelular adecuado contenga la secuencia completa de la proteína completa de la que procede. Los ejemplos de polipéptidos que contienen motivos ITAM adecuados incluyen, pero sin limitación: DAP12; FCER1G (cadena gamma I del receptor Fc épsilon); CD3D (CD3 delta); CD3E (CD3 épsilon); CD3G (CD3 gamma); CD3Z (CD3 zeta); y CD79A (cadena alfa de proteína asociada a complejo de receptor de antígeno).

En algunos casos, el dominio de señalización intracelular procede de DAP12 (también conocido como TYROBP; proteína de unión a proteína tirosina cinasa TYRO; KARAP; PLOSL; proteína de activación de DNAX 12; proteína asociada a KAR; proteína de unión a proteína tirosina cinasa TYRO; proteína asociada a receptor de activación de eliminación; proteína asociada a receptor de activación de eliminación; etc.). Por ejemplo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de cualquiera de las secuencias de aminoácidos siguientes (4 isoformas):

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLI
ALAVYFLGRLVPRGRGAAEAATRKQRITETES**PYQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYY
K (SEQ ID NO:98);

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLI
ALAVYFLGRLVPRGRGAAEAATRKQRITETES**PYQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK
(SEQ ID NO:99);

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLI**ALAVYFLGRLV**
PRGRGAAEAATRKQRITETES**PYQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (SEQ ID
NO:100); o

MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLI**ALAVYFLGRLV**
PRGRGAAEAATRKQRITETES**PYQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (SEQ ID NO:101),

donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

Del mismo modo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una porción que contiene un motivo ITAM procedente de la secuencia de aminoácidos de DAP12 de longitud completa. Por lo tanto, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: **ESP****YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQ (SEQ ID NO: 102), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

En algunos casos, el dominio de señalización intracelular procede de FCER1G (también conocido como FCRG; cadena gamma I del receptor Fc épsilon; cadena gamma del receptor de Fc; Fc-épsilon RI-gamma; FcRgamma; FceRI gamma; subunidad gamma del receptor épsilon de inmunoglobulina de alta afinidad; receptor E de inmunoglobulina, alta afinidad, cadena gamma; etc.). Por ejemplo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: **MIPAVV**LLLLLLVEQAAALGEPQLCYILDAILFLYIGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEKSDGV**YTGL**STRNQET**YETL**KHE KPPQ (SEQ ID NO: 103), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

Del mismo modo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una porción que contiene un motivo ITAM procedente de la secuencia de aminoácidos de FCER1G de longitud completa. Por lo tanto, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: DGV**YTGL**STRNOET**YETL**KHE (SEQ ID NO: 104), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

En algunos casos, el dominio de señalización intracelular procede de la cadena delta de la glucoproteína de la superficie de los linfocitos T CD3 (también conocido como CD3D; CD3-DELTA; T3D; antígeno CD3, subunidad delta; CD3 delta; antígeno CD3d, polipéptido delta (complejo TiT3); OKT3, cadena delta; cadena delta del receptor T3 de linfocitos T; cadena delta de la glucoproteína de la superficie de linfocitos T CD3; etc.). Por ejemplo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa o de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 170 aa, de cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos (2 isoformas):

MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFN CNTSITWVEGTVGTLLSDITRL
DLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIAT
LLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQV**YQPL**RDRDDA**QYSHL**GGNWAR
NK (SEQ ID NO:105) o

MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFN CNTSITWVEGTVGTLLSDITRL
DLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVOVHYRTAPTOALLRNDQV**YQPL**RDRDDA**QYSHL**GGNWARNK (SEQ ID NO: 106), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

Del mismo modo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una porción que contiene un motivo ITAM procedente de la secuencia de aminoácidos de CD3 delta de longitud completa. Por lo tanto, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: DQV**YQPL**RDRDDA**QYSHL**GGN (SEQ ID NO: 107), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

En algunos casos, el dominio de señalización intracelular procede de la cadena épsilon de la glucoproteína de la superficie de los linfocitos T CD3 (también conocido como CD3e, cadena épsilon del antígeno T3/Leu-4 de la superficie de linfocitos T, cadena épsilon de la glucoproteína de la superficie de linfocitos T CD3, A1504783, CD3, CD3epsilon, T3e, etc.). Por ejemplo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa o de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 205 aa, de la siguiente secuencia de aminoácidos:

MQSGTHWRVLGLCLLSVGWVGQDNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGS
DEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNR
KAKAKPVTRGAG AGGRORGONKERPPVPNP**DYEPI**RKGORDLY**YSGL**NORRI (SEQ ID NO: 108), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

Del mismo modo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una porción que contiene un motivo ITAM procedente de la secuencia de aminoácidos de CD3 épsilon de longitud completa. Por lo tanto, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos

aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: NPD**YEPI**RKGRDL**YSGL**NQR (SEQ ID NO: 109), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

En algunos casos, el dominio de señalización intracelular procede de la cadena gamma de la glucoproteína de la superficie de los linfocitos T CD3 (también conocido como CD3G, cadena gamma del receptor T3 de linfocitos T, CD3-GAMMA, T3G, polipéptido gamma (complejo TIT3), etc.). Por ejemplo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa o de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 180 aa, de la siguiente secuencia de aminoácidos: MEQKGKGLAVLILAILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGMIGFLTEDKKKWNLGSSNAK DPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQDGVQRSRASDKQTLLPND QLY**YQPL**KDRE DD**QYSHL**QGNQLRRN (SEQ ID NO: 110), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

Del mismo modo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una porción que contiene un motivo ITAM procedente de la secuencia de aminoácidos de CD3 gamma de longitud completa. Por lo tanto, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: DQL**YQPL**KDREDDO**YSHL**QGN (SEQ ID NO: 111), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

En algunos casos, el dominio de señalización intracelular procede de la cadena zeta de la glucoproteína de la superficie de los linfocitos T CD3 (también conocido como CD3Z, cadena zeta del receptor T3 de linfocitos T, CD247, CD3-ZETA, CD3H, CD3Q, T3Z, TCRZ, etc.). Por ejemplo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 140 aa, de aproximadamente 140 aa a aproximadamente 150 aa o de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 160 aa, de cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos (2 isoformas):

MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRS
ADAPAYQQGQNQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAY**YSEI**GKMGERRRGKGHDGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQALPPR
(SEQ ID NO:112) o

MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRS
ADAPAYQQGQNQL**YNEL**NLGRREE**YDVL**DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAY**YSEI**GKMGERRRGKGHDGL**YQGL**STATKDT**YDAL**HMQALPPR (SEQ ID NO: 113), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

Del mismo modo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una porción que contiene un motivo ITAM procedente de la secuencia de aminoácidos de CD3 zeta de longitud completa. Por lo tanto, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de cualquiera de las secuencias de aminoácidos siguientes:

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP
 QEGLYNELQKDKMAEAYYSEIGKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ
 ALPPR (SEQ ID NO:18);

NOLYNELNLGRREEYDVLDKR (SEQ ID NO: 114);

EGLYNELQKDKMAEAYYSEIGK (SEQ ID NO: 115); o

5 DGLYQGLSTATKDTYDALHMQ (SEQ ID NO: 116), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

En algunos casos, el dominio de señalización intracelular procede de CD79A (también conocido como cadena alfa de proteína asociada al complejo de receptor de antígenos de linfocitos B; antígeno CD79a (alfa asociado a inmunoglobulinas); glucoproteína de membrana MB-1; Ig-alfa; proteína asociada a inmunoglobulina unida a membrana; proteína de superficie asociada a IgM; etc.). Por ejemplo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos con una serie contigua de aproximadamente 100 aminoácidos a aproximadamente 110 aminoácidos (aa), de aproximadamente 110 aa a aproximadamente 115 aa, de aproximadamente 115 aa a aproximadamente 120 aa, de aproximadamente 120 aa a aproximadamente 130 aa, de aproximadamente 130 aa a aproximadamente 150 aa, de aproximadamente 150 aa a aproximadamente 200 aa o de aproximadamente 200 aa a aproximadamente 220 aa, de cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos (2 isoformas):

MPGGPGVLQALPATIFLLFLLSAVYLGPGCQALWMHKVPASLMVSLGEDA
 HFQCPHNSSNNANVTWWRVLHGNYTWPPEFLGPGEDPNGTLIIQNVNKS~~SHGGIYV~~
 CRVQEGNESYQQSCGTYLRVRQPPRPFLDMGEGTKNRIITAEGIILLFC~~AVVP~~GTLL
 LFRKRWQNEKLGLDAGDEYEDENLYEGLNLDDCSMYEDIS~~RGLQ~~GT~~YQ~~DVGS~~LN~~
 IGDVQLEKP (SEQ ID NO:117); o

MPGGPGVLQALPATIFLLFLLSAVYLGPGCQALWMHKVPASLMVSLGEDAHFQCPHNSSNNANVTWWRVLHGNYT
 WPPEFLGPGEDPNEPPRPFLDMGEGTKNRIITAEGIILLFC~~AVVP~~GTLLLFRKRWQNEKLGLDAGDEYEDENLYEGL
 NLDDCSMYE DISRGLQGT~~YQ~~DVGS~~LN~~IGDVQLEKP (SEQ ID NO: 118), donde los motivos ITAM se encuentran en
 25 negrita y subrayados.

Del mismo modo, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una porción que contiene un motivo ITAM procedente de la secuencia de aminoácidos de CD79A de longitud completa. Por lo tanto, un polipéptido de dominio de señalización intracelular adecuado puede comprender una secuencia de aminoácidos que tenga al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la siguiente secuencia de aminoácidos: ENLYEGLNLDDCSMYEDISRG (SEQ ID NO: 119), donde los motivos ITAM se encuentran en negrita y subrayados.

35 **DAP10/CD28**

Los dominios de señalización intracelular adecuados para su uso en un CAR de la presente divulgación incluyen una cadena de señalización de tipo DAP10/CD28.

40 Un ejemplo de una cadena de señalización de DAP10 es la secuencia de aminoácidos: RPRRSPAQDGKVYINMPGRG (SEQ ID NO: 120). En algunas realizaciones, un dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la secuencia de aminoácidos de longitud completa RPRRSPAQDGKVYINMPGRG (SEQ ID NO: 120).

45 Un ejemplo de una cadena de señalización de CD28 es la secuencia de aminoácidos FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO: 121). En algunas realizaciones, un dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de la secuencia de aminoácidos de longitud completa

FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYYQ

PYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO:121).

ZAP70

- 5 Los dominios de señalización intracelular adecuados para su uso en un CAR de la presente divulgación incluyen un polipéptido ZAP70, por ejemplo, un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 98 %, al menos aproximadamente un 99 % o un 100 %, de identidad de secuencia de aminoácidos respecto de una serie contigua de aproximadamente 300 aminoácidos a aproximadamente 400 aminoácidos, de aproximadamente 400 aminoácidos a aproximadamente 500 aminoácidos o de aproximadamente 500 aminoácidos a 619 aminoácidos, de la siguiente secuencia de aminoácidos:

MPDPA AHL PFFYGSISR AEAE EHLKLAGMADGLFLLRQCLRS LGGYVLSLVH D VRF
 HHFPIERQLNGTYAIAGGKAHCGPAELCEFYSRDPDGLPCNLRKPCNRP SGLEPQPG
 VFDCLRDAMVRDYVRQ TWKLEGEALEQAIISQAPQVEKLIATTAHERMPWYHSSL
 TREEAERKLYSGAQT D GKFLLRPRKEQGT Y ALSLIYGKTVYHYLISQDKAGKYCIP
 EGTKFDTLWQLVEYLK LKADGLIYCLKEACPNSSASNASGAAAPTLP AHPSTLTHP
 QRRIDTLNSDGYTPEPARITSPDKPRPMPMDTSVYESPYSDPEELKDKKLFLKRDNL
 LIADIELGCGNFGSVRQGVYRMRKKQIDVAIKVLKQGTEKADTEEMMREAQIMHQ
 LDNPYIVRLIGVCQAEALMLVMEMAGGGPLHKFLVGKREEIPVSNVAELLHQVSM
 GMKYLEEKNFVHRDLAARNVLLVNRHYAKISDFGLSKALGADDSYYTARSAGKW
 PLKWYAPECINFRKFSSRSDVWSYGV TMWEALS YGQKPYKKMKGPEVMAFIEQG
 KRMECPPECPELYALMSDCWIYKWEDRPDFTVEQRM RACYYS LASKVEGPPGS
 TQKAEAAACA (SEQ ID NO:36).

15 Secuencias adicionales

El primer y/o el segundo polipéptido de un CAR concreto puede incluir además uno o más dominios de polipéptido adicionales, incluyendo dichos dominios, pero sin limitación, una secuencia de señal; una etiqueta epitópica; un dominio de afinidad; y un polipéptido que produce una señal detectable.

20 *Secuencias de señal*

Las secuencias de señal que son adecuadas para su uso en un CAR concreto, por ejemplo, en el primer polipéptido de un CAR concreto, incluyen cualquier secuencia de señal de eucariota, incluyendo una secuencia de señal de origen natural, una secuencia sintética (por ejemplo, producida por la mano del hombre), etc.

Etiqueta epitópica

30 Las etiquetas epitópicas adecuadas incluyen, pero sin limitación, hemaglutinina (HA; por ejemplo, YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 122); FLAG (por ejemplo, DYKDDDDK (SEQ ID NO: 123); c-myc (por ejemplo, EQKLISEEDL; SEQ ID NO: 4) y similares.

Dominio de afinidad

35 Los dominios de afinidad incluyen secuencias peptídicas que pueden interactuar con un compañero de unión, por ejemplo, tal como uno inmovilizado sobre un soporte sólido, útiles con fines de identificación o purificación. Pueden usarse secuencias de ADN que codifican múltiples aminoácidos individuales consecutivos, tales como histidina, que cuando se fusionan a la proteína expresada permiten la purificación en una etapa de la proteína recombinante mediante unión de alta afinidad a una columna de resina, tal como níquel-sefarsa. Los dominios de afinidad a modo de ejemplo incluyen His5 (HHHHH) (SEQ ID NO: 124), HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO: 125), C-myc (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO: 4), Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO: 123), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO: 126), hemaglutinina, por ejemplo, etiqueta HA (YPYDVPDYA) (SEQ ID NO: 122), GST, tiorredoxina, dominio de unión a celulosa, RYIRS

(SEQ ID NO: 127), Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO: 128), dominio de unión a quitina, péptido S, péptido T7, dominio SH2, etiqueta de ARN de extremo C, WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO: 129), dominios de unión a metal, por ejemplo, dominios de unión a cinc o dominios de unión a calcio, tales como aquellos de las proteínas de unión a calcio, por ejemplo, calmodulina, troponina C, calcineurina B, cadena ligera de miosina, recoverina, S-modulina, visinina, VILIP, neurocalcina, hipocalcina, frecuenina, caltractina, subunidad grande de calpaína, proteínas S100, parvalbúmina, calbindina D9K, calbindina D28K y calretinina, inteínas, biotina, estreptavidina, MyoD, Id, secuencias de cremallera de leucina y proteína de unión a maltosa.

Polipéptidos que producen señal detectable

Las proteínas productoras de señal detectable adecuadas incluyen, por ejemplo, proteínas fluorescentes; enzimas que catalizan una reacción que genera una señal detectable como producto; y similares.

Las proteínas fluorescentes adecuadas incluyen, pero sin limitación, proteína fluorescente verde (GFP) o variantes de la misma, variante fluorescente azul de GFP (BFP), variante fluorescente cian de GFP (CFP), variante fluorescente amarilla de GFP (YFP), GFP mejorada (EGFP), CFP mejorada (ECFP), YFP mejorada (EYFP), GFPS65T, Esmeralda, Topacio (TYFP), Venus, Citrina, mCitrina, GFPuv, EGFP desestabilizada (dEGFP), ECFP desestabilizada (dECFP), EYFP desestabilizada (dEYFP), mCFPm, Ceruleano, T-Zafiro, CyPet, YPet, mKO, HcRed, t-HcRed, DsRed, DsRed2, monómero de DsRed, J-Red, dimer2, t-dimer2(12), mRFP1, pociloporina, GFP de Renilla, GFP de Monster, paGFP, proteína Kaede y proteína kindling, ficobiliproteínas y conjugados de ficobiliproteína, incluyendo B-ficoeritrina, R-ficoeritrina y alofococianina. Otros ejemplos de proteínas fluorescentes incluyen mHoneydew, mBanana, mOrange, dTomato, tdTomato, mTangerine, mStrawberry, mCherry, mGrape1, mRaspberry, mGrape2, mPlum (Shaner *et al.* (2005) Nat. Methods 2:905-909) y similares. Es adecuado el uso de cualquiera de una serie de proteínas fluorescentes y coloreadas de especies de antozoos, tal como se describe, por ejemplo, en Matz *et al.* (1999) Nature Biotechnol. 17:969-973.

Las enzimas adecuadas incluyen, pero sin limitación, peroxidasa de rábano picante (HRP), fosfatasa alcalina (AP), beta-galactosidasa (GAL), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, beta-N-acetilglucosaminidasa, β -glucuronidasa, invertasa, xantina oxidasa, luciferasa de luciérnaga, glucosa oxidasa y similares.

Recombinación de secuencias

En determinados casos, pueden reorganizarse o eliminarse las secuencias de los polipéptidos de un CAR, por ejemplo, dominios de CAR en una célula mediante el uso de la tecnología de recombinación de sitio específico. En determinadas realizaciones, puede cambiarse la respuesta relacionada con la activación celular frente a un CAR concreto mediante recombinación de sitio específico, por ejemplo, puede intercambiarse un primer dominio de señalización intracelular de un CAR que desencadena una primera respuesta relacionada con la activación por un segundo dominio de señalización intracelular que desencadena una segunda respuesta relacionada con la activación. En determinados casos, puede cambiarse la respuesta a un dimerizador concreto de un CAR mediante recombinación de sitio específico, por ejemplo, puede intercambiarse un primer par de unión a dimerizador que provoca la dimerización de un CAR en presencia de un primer dimerizador por un segundo par de unión a dimerizador que provoca la dimerización del CAR en presencia de un segundo dimerizador. Como será evidente para los expertos en la materia, puede usarse recombinación de sitio específico en una célula para intercambiar cualquier dominio o secuencia de un CAR por cualquier otro dominio o secuencia, tal como se divulga en el presente documento. Como también será evidente para los expertos en la materia, puede usarse recombinación de sitio específico en una célula para eliminar cualquier dominio o secuencia de un CAR. Dicho intercambio y extracción de secuencias y dominios se conoce en la técnica, véase, por ejemplo, el intercambio de dominios en cuerpos de señalización como se describe en Tone *et al.* (2013) Biotechnology and Bioengineering, 3219-3226, cuya divulgación se divulga en el presente documento como referencia. También se conocen en la técnica los mecanismos y requisitos para llevar a cabo la recombinación de sitio específico *in vivo*, véase, por ejemplo, Grindley *et al.* (2006) Annual Review of Biochemistry, 567-605 y Tropp (2012) Molecular Biology (Jones & Bartlett Publishers, Sudbury, MA), cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia.

ÁCIDOS NUCLEICOS

La presente divulgación proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación será ADN, incluyendo, por ejemplo, un vector de expresión recombinante. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación será ARN, por ejemplo, ARN sintetizado *in vitro*.

En algunos casos, un ácido nucleico de la presente divulgación comprende una secuencia de nucleótidos que codifica únicamente el primer polipéptido (y no el segundo polipéptido) de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación. En algunos casos, un ácido nucleico de la presente divulgación comprende una secuencia de

nucleótidos que codifica únicamente el segundo polipéptido (y no el primer polipéptido) de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación. En algunos casos, un ácido nucleico de la presente divulgación comprende una secuencia de nucleótidos que codifica tanto el primer polipéptido como el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación.

5 En algunos casos, un ácido nucleico concreto posibilita la producción de un CAR de la presente divulgación, por ejemplo, en una célula de mamífero. En otros casos, un ácido nucleico concreto posibilita la amplificación del ácido nucleico que codifica el CAR.

10 Una secuencia de ácido nucleico que codifica el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR de la presente divulgación puede unirse operativamente a un elemento de control transcripcional, por ejemplo, un promotor y un potenciador, etc.

15 Se conocen en la técnica elementos promotores y potenciadores adecuados. Para su expresión en una célula bacteriana, los promotores adecuados incluyen, pero sin limitación, *lacI*, *lacZ*, T3, T7, *gpt*, *lambda P* y *trc*. Para su expresión en una célula eucariota, los promotores adecuados incluyen, pero sin limitación, el promotor del gen de la cadena ligera y/o pesada de inmunoglobulina y elementos potenciadores; el promotor temprano inmediato de citomegalovirus; el promotor de timidina cinasa del virus herpes simplex; los promotores temprano y tardío de SV40; el promotor presente en las repeticiones terminales largas de un retrovirus; el promotor de metalotioneína-I de ratón; y diversos promotores específicos de tejido conocidos en la técnica.

25 Se conocen en la técnica promotores reversibles adecuados, incluyendo promotores inducibles reversibles. Dichos promotores reversibles pueden aislarse y obtenerse de diversos organismos, por ejemplo, eucariotas y procariotas. Se conoce bien en la técnica la modificación de promotores reversibles procedentes de un organismo para su uso en un segundo organismo, por ejemplo, un primer procariota y un segundo eucariota, un primer eucariota y un segundo procariota, etc. Dichos promotores reversibles y los sistemas basados en dichos promotores reversibles pero que también comprenden proteínas de control adicionales incluyen, pero sin limitación, promotores regulados por alcohol (por ejemplo, el promotor del gen de alcohol deshidrogenasa I (*alcA*), promotores sensibles a proteínas transactivadoras del alcohol (*AlcR*), etc.), promotores regulados por tetraciclina, (por ejemplo, sistemas promotores que incluyen activadores Tet, TetON, TetOFF, etc.), promotores regulados por esteroides (por ejemplo, sistemas de promotor de receptor de glucocorticoides de rata, sistemas de promotor de receptor de estrógenos humano, sistemas de promotor de retinoides, sistemas de promotor de tiroides, sistemas de promotor de ecdisona, sistemas de promotor de mifepristona, etc.), promotores regulados por metales (por ejemplo, sistemas de promotor de metalotioneína, etc.), promotores regulados por patogénesis (por ejemplo, promotores regulados por ácido salicílico, promotores regulados por etileno, promotores regulados por benzotiadiazol, etc.), promotores regulados por temperatura (por ejemplo, promotores inducibles por choque térmico (por ejemplo, HSP-70, HSP-90, el promotor de choque térmico de la soja, etc.), promotores regulados por luz, promotores inducibles sintéticos y similares.

40 En algunos casos, el locus o la construcción o el transgén que contiene el promotor adecuado se activa de manera irreversible a través de la inducción de un sistema inducible. Se conocen bien en la técnica sistemas inducibles para la inducción de un centro activo irreversible, por ejemplo, la inducción de un centro activo irreversible puede emplear una recombinación mediada por Cre-lox (véase, por ejemplo, Fuhrmann-Benzakein, *et al.*, PNAS (2000) 28:e99), cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia. Puede usarse cualquier combinación adecuada de recombinasa, endonucleasa, ligasa, sitios de recombinación, etc. conocidos en la técnica para generar un promotor activable de manera irreversible. Se conocen bien en la técnica métodos, mecanismos y requisitos para llevar a cabo la recombinación de sitio específico, descrita en otra parte del presente documento y son útiles para generar promotores activados de manera irreversible, véase, por ejemplo, Grindley *et al.* (2006) Annual Review of Biochemistry, 567-605 y Tropp (2012) Molecular Biology (Jones & Bartlett Publishers, Sudbury, MA), cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia.

50 En algunos casos, el promotor es un promotor específico de células CD8, un promotor específico de células CD4, un promotor específico de neutrófilos o un promotor específico de NK. Por ejemplo, puede usarse un promotor del gen CD4; véase, por ejemplo, Salmon *et al.* (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:7739; y Marodon *et al.* (2003) Blood 101:3416. A modo de ejemplo adicional, puede usarse un promotor del gen CD8. Puede lograrse la expresión específica en células NK mediante el uso de un promotor *Ncr1* (*p46*); véase, por ejemplo, Eckelhart *et al.* (2011) Blood 117:1565.

60 En algunas realizaciones, por ejemplo, para su expresión en una célula de levadura, un promotor adecuado es un promotor constitutivo, tal como un promotor de ADH1, un promotor de PGK1, un promotor de ENO, un promotor de PYK1 y similares; o un promotor regulable, tal como un promotor de GAL1, un promotor de GAL10, un promotor de ADH2, un promotor de PHO5, un promotor de CUP1, un promotor de GAL7, un promotor de MET25, un promotor de MET3, un promotor de CYC1, un promotor de HIS3, un promotor de ADH1, un promotor de PGK, un promotor de GAPDH, un promotor de ADC1, un promotor de TRP1, un promotor de URA3, un promotor de LEU2, un promotor de ENO, un promotor de TP1 y AOX1 (por ejemplo, para su uso en *Pichia*). La selección del vector y el promotor adecuados se encuentra dentro de las capacidades básicas de un experto en la materia.

Los promotores adecuados para su uso en células hospedadoras procariotas incluyen, pero sin limitación, un promotor de ARN polimerasa de bacteriófago T7; promotor de *trp*; un promotor de operón *lac*; un promotor híbrido, por ejemplo, un promotor híbrido de *lac/tac*, un promotor híbrido de *tac/trc*, promotor de *trp/lac*, promotor de T7/*lac*; un promotor de *trc*; un promotor de *tac* y similares; un promotor de *araBAD*; promotores regulados *in vivo*, tales como un promotor *ssaG* o un promotor relacionado (véase, por ejemplo, la Publicación de Patente de los Estados Unidos n.º 20040131637), un promotor *pagC* (Pulkkinen y Miller, J. Bacteriol., 1991: 173(1): 86-93; Alpuche-Aranda *et al.*, PNAS, 1992; 89(21): 10079-83), un promotor *nirB* (Harborne *et al.* (1992) Mol. Micro. 6:2805-2813), y similares (véase, por ejemplo, Dunstan *et al.* (1999) Infect. Immun. 67:5133-5141; McKelvie *et al.* (2004) Vaccine 22:3243-3255; y Chatfield *et al.* (1992) Biotechnol. 10:888-892); un promotor de sigma70, por ejemplo, un promotor consenso sigma70 (véanse, por ejemplo, los n.º de referencia de GenBank AX798980, AX798961 y AX798183); un promotor de fase estacionaria, por ejemplo, un promotor *dps*, un promotor *spv* y similares; un promotor procedente de la isla de patogenia SPI-2 (véase, por ejemplo, el documento WO96/17951); un promotor *actA* (véase, por ejemplo, Shetron-Rama *et al.* (2002) Infect. Immun. 70:1087-1096); un promotor *rpsM* (véase, por ejemplo, Valdivia y Falkow (1996). Mol. Microbiol. 22:367); un promotor *tet* (véase, por ejemplo, Hillen, W. y Wissmann, A. (1989) In Saenger, W. y Heinemann, U. (eds), Topics in Molecular and Structural Biology, Protein-Nucleic Acid Interaction. Macmillan, Londres, Reino Unido, Volumen 10, págs. 143-162); un promotor SP6 (véase, por ejemplo, Melton *et al.* (1984) Nucl. Acids Res. 12:7035); y similares. Los promotores fuertes adecuados para su uso en procariotas, tales como *Escherichia coli*, incluyen, pero sin limitación, Trc, Tac, T5, T7 y P_{Lambda}. Los ejemplos no limitantes de operadores para su uso en células hospedadoras bacterianas incluyen un operador de promotor de lactosa (la proteína represora LacI cambia de conformación cuando entra en contacto con lactosa, impidiendo de este modo que la proteína represora LacI se una al operador), un operador de promotor de triptófano (cuando se encuentra en complejo con triptófano, la proteína represora TrpR tiene una conformación que se une al operador; en ausencia de triptófano, la proteína represora TrpR tiene una conformación que no se une al operador) y un operador de promotor *tac* (véase, por ejemplo, deBoer *et al.* (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25).

Una secuencia de nucleótidos que codifica un CAR concreto puede estar presente en un vector de expresión y/o un vector de clonación. En los casos donde un CAR concreto comprenda dos polipéptidos separados, pueden clonarse las secuencias de nucleótidos que codifican los dos polipéptidos en el mismo vector o en vectores separados. Un vector de expresión puede incluir un marcador de selección, un origen de replicación y otras características que posibiliten la replicación y/o el mantenimiento del vector. Los vectores de expresión adecuados incluyen, por ejemplo, plásmidos, vectores víricos y similares.

Los expertos en la materia conocen grandes cantidades de vectores y promotores adecuados; muchos se encuentran disponibles comercialmente para generar construcciones recombinantes concretas. Los siguientes vectores se proporcionan a título enunciativo. Bacterianos: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, La Jolla, Calif., EE.UU.); pTrc99A, pKK223-3, pDR540 y pRIT5 (Pharmacia, Uppsala, Suecia). Eucariotas: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG y pSVL (Pharmacia).

Los vectores de expresión tienen generalmente sitios de restricción convenientes ubicados próximos a la secuencia promotora para posibilitar la inserción de secuencias de ácido nucleico que codifican proteínas heterólogas. Puede estar presente un marcador de selección operativo en el hospedador de expresión. Los vectores de expresión adecuados incluyen, pero sin limitación, vectores víricos (por ejemplo, vectores víricos basados en virus vaccinia; poliovirus; adenovirus (véase, por ejemplo, Li *et al.*, Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543 2549, 1994; Borrás *et al.*, Gene Ther 6:515 524, 1999; Li y Davidson, PNAS 92:7700 7704, 1995; Sakamoto *et al.*, H Gene Ther 5:1088 1097, 1999; documentos WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 y WO 95/00655); virus adenoasociados (véase, por ejemplo, Ali *et al.*, Hum Gene Ther 9:81 86, 1998, Flannery *et al.*, PNAS 94:6916 6921, 1997; Bennett *et al.*, Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857 2863, 1997; Jomary *et al.*, Gene Ther 4:683 690, 1997, Rolling *et al.*, Hum Gene Ther 10:641 648, 1999; Ali *et al.*, Hum Mol Genet 5:591 594, 1996; Srivastava en el documento WO 93/09239, Samulski *et al.*, J. Vir. (1989) 63:3822-3828; Mendelson *et al.*, Virol. (1988) 166:154-165; y Flotte *et al.*, PNAS (1993) 90:10613-10617); SV40; virus del herpes simple; virus de la inmunodeficiencia humana (véase, por ejemplo, Miyoshi *et al.*, PNAS 94:10319 23, 1997; Takahashi *et al.*, J Virol 73:7812 7816, 1999); un vector retroviral (por ejemplo, virus de la leucemia murina, virus de la necrosis del bazo y vectores procedentes de retrovirus, tales como el virus del sarcoma de Rous, virus del sarcoma de Harvey, virus de la leucosis aviar, virus de la inmunodeficiencia humana, virus del sarcoma mieloproliferativo y virus del tumor mamario); y similares.

Como se ha indicado anteriormente, en algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación será ARN, por ejemplo, ARN sintetizado *in vitro*. Se conocen en la técnica métodos para la síntesis de ARN *in vitro*; puede emplearse cualquier método conocido para sintetizar ARN que comprenda una secuencia de nucleótidos que codifica el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación. Se conocen en la técnica métodos para introducir ARN en una célula hospedadora. Véase, por ejemplo, Zhao *et al.* (2010) Cancer Res. 15:9053. La introducción de un ARN que comprenda una secuencia de nucleótidos que codifique el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación en una célula hospedadora puede llevarse a cabo *in vitro* o *ex vivo* o *in vivo*. Por ejemplo, puede someterse a electroporación a una célula hospedadora (por ejemplo, una célula NK, un

linfocito T citotóxico, etc.) *in vitro* o *ex vivo* con ARN que comprenda una secuencia de nucleótidos que codifique el primer y/o el segundo polipéptido de un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación.

CÉLULAS

5 La presente divulgación proporciona una célula de mamífero que se modifica genéticamente para producir un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación.

10 Las células de mamífero adecuadas incluyen células primarias y líneas celulares inmortalizadas. Las líneas celulares de mamífero adecuadas incluyen líneas celulares humanas, líneas celulares de primate no humano, líneas celulares de roedor (por ejemplo, ratón, rata) y similares. Las líneas celulares de mamífero adecuadas incluyen, pero sin limitación, células HeLa (por ejemplo, Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) n.º CCL-2), células CHO (por ejemplo, ATCC n.º CRL9618, CCL61, CRL9096), células 293 (por ejemplo, ATCC n.º CRL-1573), células Vero, células NIH 3T3 (por ejemplo, ATCC n.º CRL-1658), células Huh-7, células BHK (por ejemplo, ATCC n.º CCL10), células PC12 (ATCC n.º CRL1721), células COS, células COS-7 (ATCC n.º CRL1651), células RAT1, células L de ratón (ATCC n.º CCL1.3), células de riñón embrionario humano (HEK) (ATCC n.º CRL1573), células HLHepG2, líneas celulares Hut-78, Jurkat, HL-60, NK (por ejemplo, NKL, NK92 e YTS) y similares.

20 En algunos casos, la célula no es una línea celular inmortalizada, sino que es una célula (por ejemplo, una célula primaria) obtenida de un individuo. Por ejemplo, en algunos casos, la célula es una célula inmunitaria obtenida de un individuo. Como un ejemplo, la célula es un linfocito T obtenido de un individuo. A modo de ejemplo adicional, la célula es una célula citotóxica obtenida de un individuo. A modo de ejemplo adicional, la célula es una célula madre o una célula progenitora obtenida de un individuo.

25 MÉTODOS PARA ACTIVAR UNA CÉLULA INMUNITARIA

La presente divulgación proporciona métodos para activar una célula inmunitaria *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*. Los métodos implican generalmente poner en contacto una célula inmunitaria (*in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*) con un agente dimerizador y un antígeno, estando la célula inmunitaria modificada genéticamente para producir un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación. En presencia del agente dimerizador y del antígeno, el CAR heterodimérico condicionalmente activo se dimeriza y activa a la célula inmunitaria, produciendo de este modo una célula inmunitaria activada. Las células inmunitarias incluyen, por ejemplo, un linfocito T citotóxico, una célula NK, un linfocito T CD4+, un linfocito T regulador (Treg), etc.

35 La puesta en contacto de la célula inmunitaria modificada genéticamente (por ejemplo, un linfocito T, una célula NK) con un agente dimerizador y un segundo miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un antígeno, un ligando, un receptor) puede aumentar la producción de una citocina por parte de la célula inmunitaria en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la cantidad de citocina producida por la célula inmunitaria en ausencia del segundo miembro de un par de unión específica y/o del agente de dimerización. Las citocinas cuya producción puede aumentarse incluyen, pero sin limitación, IL-2 e IFN- γ .

45 La puesta en contacto de la célula inmunitaria modificada genéticamente (por ejemplo, un linfocito T, una célula NK) con un agente dimerizador y un antígeno puede aumentar la producción de una citocina por parte de la célula inmunitaria en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la cantidad de citocinas producidas por la célula inmunitaria en ausencia del antígeno y/o del agente de dimerización. Las citocinas cuya producción puede aumentarse incluyen, pero sin limitación, IL-2 e IFN- γ .

55 La puesta en contacto de una célula citotóxica modificada genéticamente (por ejemplo, un linfocito T citotóxico) con un agente dimerizador y un segundo miembro de un par de unión específica (por ejemplo, un antígeno, un ligando, un receptor) puede aumentar la actividad citotóxica de la célula citotóxica en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la actividad citotóxica de la célula citotóxica en ausencia del agente de dimerización.

65 La puesta en contacto de una célula citotóxica modificada genéticamente (por ejemplo, linfocito T citotóxico) con un agente de dimerización y un antígeno puede aumentar la actividad citotóxica de la célula citotóxica en al menos

aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la actividad citotóxica de la célula citotóxica en ausencia del agente de dimerización.

En otras realizaciones, por ejemplo, dependiendo de la célula inmunitaria hospedadora, la puesta en contacto de una célula hospedadora modificada genéticamente con un agente de dimerización y un antígeno puede aumentar o reducir la proliferación celular, la supervivencia celular, la muerte celular y similares.

MÉTODOS PARA GENERAR UNA CÉLULA CONDICIONALMENTE ACTIVABLE

La presente divulgación proporciona un método para generar una célula condicionalmente activable. El método implica generalmente modificar genéticamente una célula de mamífero con un vector de expresión o un ARN (por ejemplo, ARN transcrito *in vitro*), que comprende secuencias de nucleótidos que codifican un CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación. La célula genéticamente modificada se puede activar condicionalmente en presencia de: a) un antígeno al que se une el primer polipéptido del CAR; y b) un dimerizador (un agente de dimerización). La modificación genética puede llevarse a cabo *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*. La célula puede ser una célula inmunitaria (por ejemplo, un linfocito T o una célula NK), una célula madre, una célula progenitora, etc.

En algunos casos, la modificación genética se lleva a cabo *ex vivo*. Por ejemplo, se obtiene un linfocito T, una célula madre o una célula NK de un individuo; y la célula obtenida del individuo se modifica genéticamente para expresar un CAR de la presente divulgación. La célula genéticamente modificada se puede activar condicionalmente en presencia de: a) un antígeno al que se une el primer polipéptido del CAR; y b) un dimerizador. En algunos casos, la célula genéticamente modificada se activa *ex vivo*. En otros casos, la célula genéticamente modificada se introduce en un individuo (por ejemplo, el individuo del cual se obtuvo la célula); y la célula genéticamente modificada se activa *in vivo*, por ejemplo, administrando un dimerizador al individuo. Por ejemplo, en los casos donde el antígeno está presente sobre la superficie de una célula en el individuo, no hay necesidad de administrar el antígeno. La célula genéticamente modificada entra en contacto con el antígeno presente sobre la superficie de una célula en el individuo; y, tras la administración de un dimerizador al individuo, se activa la célula genéticamente modificada. Por ejemplo, en los casos donde la célula genéticamente modificada es un linfocito T, la célula genéticamente modificada puede mostrar citotoxicidad frente a una célula que presenta un antígeno sobre su superficie a la que se une el CAR.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

La presente divulgación proporciona diversos métodos de tratamiento usando un CAR concreto.

Métodos de citotoxicidad

Un CAR de la presente divulgación, cuando está presente en un linfocito T o una célula NK, puede mediar la citotoxicidad hacia una célula diana. Un CAR de la presente divulgación se une a un antígeno presente en una célula diana, mediando de este modo la eliminación de una célula diana por medio de un linfocito T o de una célula NK genéticamente modificada para que produzca el CAR. El dominio de unión a antígeno del CAR se une a un antígeno presente sobre la superficie de una célula diana.

Las células diana incluyen, pero sin limitación, células cancerosas. Por lo tanto, la presente divulgación proporciona métodos para eliminar o inhibir el crecimiento de una célula diana de cáncer, implicando el método poner en contacto una célula efectora inmunitaria citotóxica (por ejemplo, un linfocito T citotóxico o una célula NK) que está modificada genéticamente para producir un CAR concreto, de tal forma que el linfocito T o la célula NK reconoce un antígeno presente sobre la superficie de una célula de cáncer diana y media la eliminación de la célula diana.

La presente divulgación proporciona un método para tratar el cáncer en un individuo que tenga un cáncer, comprendiendo el método: i) modificar genéticamente linfocitos T obtenidos del individuo con un vector de expresión que comprende secuencias de nucleótidos que codifican el CAR heterodimérico condicionalmente activo de la presente divulgación, donde el dominio de unión a antígeno del CAR heterodimérico condicionalmente activo es específico para un epítipo en una célula cancerosa en el individuo y donde la modificación genética se lleva a cabo *ex vivo*; ii) introducir los linfocitos T genéticamente modificados en el individuo; e iii) administrar al individuo una cantidad eficaz de un agente de dimerización, en donde el agente de dimerización induce la dimerización del CAR heterodimérico condicionalmente activo, en donde dicha dimerización posibilita la activación de los linfocitos T genéticamente modificados y la eliminación de la célula cancerosa, tratando de este modo el cáncer.

Los carcinomas que pueden ser susceptibles a la terapia mediante un método divulgado en el presente documento incluyen, pero sin limitación, carcinoma esofágico, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células basales (una forma de cáncer de piel), carcinoma de células escamosas (diversos tejidos), carcinoma de vejiga, carcinoma de células transicionales (una neoplasia maligna de la vejiga), carcinoma broncogénico, carcinoma de colon, carcinoma colorrectal, carcinoma gástrico, carcinoma de pulmón, incluyendo carcinoma microcítico de pulmón y carcinoma no

microcítico de pulmón, carcinoma adrenocortical, carcinoma de tiroides, carcinoma pancreático, carcinoma de mama, carcinoma ovárico, carcinoma de próstata, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinoma papilar, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma de células renales, carcinoma ductal *in situ* o carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, carcinoma de cuello de útero, carcinoma uterino, carcinoma testicular, carcinoma osteogénico, carcinoma epitelial y carcinoma nasofaríngeo.

Los sarcomas que pueden ser susceptibles a la terapia mediante un método divulgado en el presente documento incluyen, pero sin limitación, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, cordoma, sarcoma osteogénico, osteosarcoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, sarcoma de Ewing, leiomiomasarcoma, rabiomiosarcoma y otros sarcomas de tejidos blandos.

Otros tumores sólidos que pueden ser susceptibles a la terapia mediante un método divulgado en el presente documento incluyen, pero sin limitación, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, menangioma, melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma.

Las leucemias que pueden ser susceptibles a la terapia mediante un método divulgado en el presente documento incluyen, pero sin limitación, a) síndromes mieloproliferativos crónicos (trastornos neoplásicos de células madre hematopoyéticas multipotentes); b) leucemias mielógenas agudas (transformación neoplásica de una célula hematopoyética multipotente o de una célula hematopoyética de potencial de linaje restringido); c) leucemias linfocíticas crónicas (CLL; proliferación clonal de linfocitos pequeños inmunológicamente inmaduros y funcionalmente incompetentes), incluyendo CLL de linfocitos B, leucemia prolinfocítica CLL de linfocitos T y tricoleucemia; y d) leucemias linfoblásticas agudas (caracterizadas por la acumulación de linfoblastos). Los linfomas que pueden tratarse usando uno de los presentes métodos incluyen, pero sin limitación, linfomas de linfocitos B (por ejemplo, linfoma de Burkitt); linfoma de Hodgkin; linfoma no Hodgkin y similares.

Otros cánceres que pueden ser susceptibles al tratamiento de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento incluyen el meningioma atípico (cerebro), carcinoma de células de islote (páncreas), carcinoma medular (tiroides), mesenquimoma (intestino), carcinoma hepatocelular (hígado), hepatoblastoma (hígado), carcinoma de células claras (riñón) y neurofibroma del mediastino.

Métodos inmunomoduladores

También puede usarse uno de los presentes métodos para tratar afecciones inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias. Para su uso en un método inmunomodulador, se expresa un CAR concreto en un linfocito T colaborador o en un Treg. Los métodos inmunomoduladores incluyen, por ejemplo, mejorar una respuesta inmunitaria en un sujeto mamífero frente a un patógeno; mejorar una respuesta inmunitaria en un sujeto que se encuentra inmunocomprometido; reducir una respuesta inflamatoria; reducir una respuesta inmunitaria en un sujeto mamífero frente a un autoantígeno, por ejemplo, para tratar una enfermedad autoinmunitaria; y reducir una respuesta inmunitaria en un sujeto mamífero frente a un órgano o tejido trasplantado, para reducir el rechazo del órgano o tejido.

En los casos donde el método implica reducir una respuesta inmunitaria frente a un autoantígeno, el antígeno usado para activar el CAR es un autoantígeno. En los casos donde el método implica reducir una respuesta inmunitaria frente a un órgano o tejido trasplantado, el antígeno usado para activar el CAR es un antígeno específico para el órgano trasplantado.

Formulaciones, dosis y vías de administración

Tal como se ha discutido anteriormente, un método de tratamiento de la presente divulgación implica la administración a un individuo que lo necesite de una cantidad eficaz de un agente dimerizador y también puede implicar la administración de un antígeno.

Una "cantidad eficaz" de un agente dimerizador es, en algunos casos, una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo que lo necesite, aumenta el nivel de actividad citotóxica de un linfocito T que expresa un CAR concreto en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la actividad citotóxica del linfocito T en ausencia del agente de dimerización.

Una "cantidad eficaz" de un agente dimerizador es, en algunos casos, una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo que lo necesite, aumenta el nivel de actividad citotóxica de una célula NK que expresa un CAR concreto en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos

aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 10 veces o más de 10 veces, en comparación con la actividad citotóxica de la célula NK en ausencia del agente de dimerización.

5 Una "cantidad eficaz" de un agente dimerizador es, en algunos casos, una cantidad que, cuando se administra en una o más dosis a un individuo que lo necesite, reduce el número de células cancerosas en el individuo y/o reduce la masa tumoral en el individuo, en al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos
10 aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 % o en más del 75 %, en comparación con el número de células cancerosas y/o con la masa tumoral en ausencia del agente de dimerización.

15 En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un dimerizador es una cantidad que, cuando se administra sola (por ejemplo, en monoterapia) o en combinación (por ejemplo, en terapia combinada) con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en una o más dosis, es eficaz para reducir uno o más de la velocidad de crecimiento tumoral, el número de células cancerosas y la masa tumoral, en al menos aproximadamente un 5 %, al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos
20 menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 % o más, en comparación con la velocidad de crecimiento tumoral, el número de células cancerosas o la masa tumoral en ausencia de tratamiento con el dimerizador.

Formulaciones

25 En los presentes métodos, puede administrarse al hospedador un dimerizador usando cualquier medio conveniente capaz de dar como resultado el efecto terapéutico o el efecto diagnóstico deseado. Por lo tanto, el dimerizador puede incorporarse en diversas formulaciones para su administración terapéutica. Más particularmente, puede formularse un dimerizador en composiciones farmacéuticas combinándolo con vehículos o diluyentes adecuados farmacéuticamente
30 aceptables y puede formularse en preparaciones en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, pomadas, soluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes y aerosoles.

En las formas de dosificación farmacéuticas, puede administrarse un dimerizador en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables o también puede usarse solo o en una asociación adecuada, así como en combinación, con otros compuestos farmacéuticamente activos. Los siguientes métodos y excipientes son simplemente ilustrativos y en modo alguno limitantes.

40 Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol o similares y combinaciones de los mismos. Además, si se desea, el vehículo puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes o agentes tamponadores del pH. Los métodos reales para preparar dichas formas de dosificación se conocen o serán evidentes para los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 17ª edición, 1985. En cualquier caso, la composición o formulación que se vaya a administrar contendrá una cantidad de un dimerizador adecuada para lograr el estado deseado en el sujeto que se esté tratando.

45 Los excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos, adyuvantes, transportadores o diluyentes, se encuentran fácilmente accesibles al público. Además, las sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de ajuste de pH y tamponadores, agentes de ajuste de la tonicidad, estabilizantes, agentes humectantes y similares, se encuentran fácilmente accesibles al público.

50 Para preparaciones orales, puede usarse un dimerizador solo o en combinación con aditivos adecuados para preparar comprimidos, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo, con aditivos convencionales, tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de patata; con aglutinantes, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, acacia, almidón de maíz o gelatinas; con disgregantes, tales como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa
55 sódica; con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio; y si se desea, con diluyentes, agentes tamponadores, agentes humectantes, conservantes y agentes aromatizantes.

Puede formularse un dimerizador en preparaciones para inyección disolviendo, suspendiendo o emulsionándolo en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, glicéridos de ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; y si se desea, con aditivos convencionales, tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizantes y conservantes.

60 Las composiciones farmacéuticas que comprenden un dimerizador se preparan mezclando el dimerizador que tiene el grado de pureza deseada con vehículos, excipientes, estabilizantes, tensioactivos, tampones y/o agentes de tonicidad fisiológicamente aceptables. Los vehículos, excipientes y/o estabilizantes no son tóxicos para los receptores

a las dosis y concentraciones empleadas e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico, glutatión, cisteína, metionina y ácido cítrico; conservantes (tales como etanol, alcohol bencílico, fenol, m-cresol, p-clor-m-cresol, metil o propil parabenos, cloruro de benzalconio o combinaciones de los mismos); aminoácidos, tales como arginina, glicina, ornitina, lisina, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, isoleucina, leucina, alanina, fenilalanina, tirosina, triptófano, metionina, serina, prolina y combinaciones de los mismos; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos; polipéptidos de bajo peso molecular (de menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como gelatina o albúmina sérica; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como trehalosa, sacarosa, lactosa, glucosa, manosa, maltosa, galactosa, fructosa, sorbosa, rafinosa, glucosamina, N-metilglucosamina, galactosamina y ácido neuramínico; y/o tensioactivos no iónicos, tales como Tween, Brij, Pluronic, Triton-X o polietilenglicol (PEG).

La composición farmacéutica puede estar en una forma líquida, una forma liofilizada o una forma líquida reconstituida a partir de una forma liofilizada, en donde la preparación liofilizada se reconstituirá con una solución estéril antes de su administración. El procedimiento convencional para reconstituir una composición liofilizada es añadir de nuevo un volumen de agua pura (normalmente equivalente al volumen eliminado durante la liofilización); sin embargo, pueden emplearse soluciones que comprenden agentes antibacterianos para la producción de composiciones farmacéuticas para administración parenteral; véase también Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311-54.

La expresión "forma de dosis unitaria", tal como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de un dimerizador calculada en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado en asociación con un diluyente, transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las especificaciones para un dimerizador dado pueden depender del dimerizador concreto empleado y del efecto que se pretenda lograr y de la farmacodinámica asociada con cada dimerizador en el hospedador.

En algunas realizaciones, se formula un dimerizador en una formulación de liberación controlada. Pueden prepararse preparaciones de liberación sostenida usando métodos bien conocidos en la técnica. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el dimerizador en los que las matrices se encuentran en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, copolímeros de ácido L-glutámico y etil-L-glutamato, acetato de etileno-vinilo no degradable, hidrogeles, polilactidas, copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Puede prevenirse la posible pérdida de actividad biológica usando aditivos adecuados, controlando el contenido de humedad y desarrollando composiciones de matriz polimérica específicas.

Dosificaciones

Puede determinarse una dosis adecuada por un médico adjunto u otro personal médico cualificado, basándose en diversos factores clínicos. Como se sabe en la técnica médica, la dosis para un paciente cualquiera depende de diversos factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área superficial corporal, la edad, el dimerizador concreto que se vaya a administrar, el sexo del paciente, el tiempo y la vía de administración, el estado general de salud y otros fármacos que se estén administrando concurrentemente. Un dimerizador puede administrarse en cantidades de entre 1 ng/kg de peso corporal y 20 mg/kg de peso corporal por dosis, por ejemplo, entre 0,1 mg/kg de peso corporal a 10 mg/kg de peso corporal, por ejemplo, entre 0,5 mg/kg de peso corporal a 5 mg/kg de peso corporal; sin embargo, se prevén dosis por encima y por debajo de este intervalo ilustrativo, teniendo en consideración especialmente los factores anteriormente mencionados. En caso de que el régimen sea una infusión continua, también puede encontrarse en el intervalo de 1 µg a 10 mg por kilogramo de peso corporal por minuto.

Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que los niveles de dosificación pueden variar en función del dimerizador específico, de la gravedad de los síntomas y de la susceptibilidad del sujeto a los efectos secundarios. Las dosis preferidas para un compuesto dado pueden determinarse fácilmente por los expertos en la materia por diversos medios.

Vías de administración

Un dimerizador se administra a un individuo usando cualquier método y vía disponible que sea adecuado para el suministro de fármacos, incluyendo métodos *in vivo* y *ex vivo*, así como vías de administración sistémicas y localizadas.

Las vías de administración convencionales y farmacéuticamente aceptables incluyen las vías de administración intratumoral, peritumoral, intramuscular, intratraqueal, intracraneal, subcutánea, intradérmica, aplicación tópica, intravenosa, intraarterial, rectal, nasal, oral y otras vías enterales y parenterales. Las vías de administración pueden combinarse, si se desea o ajustarse dependiendo del dimerizador y/o del efecto deseado. Puede administrarse un dimerizador en una sola dosis o en múltiples dosis. En algunas realizaciones, se administra un dimerizador por vía oral. En algunas realizaciones, se administra un dimerizador por una vía inhalatoria. En algunas realizaciones, se administra un dimerizador por vía intranasal. En algunas realizaciones, se administra un dimerizador por vía local. En algunas realizaciones, se administra un dimerizador por vía intratumoral. En algunas realizaciones, se administra un

dimerizador por vía peritumoral. En algunas realizaciones, se administra un dimerizador por vía intracraneal. En algunas realizaciones, se administra un dimerizador por vía intravenosa.

El agente puede administrarse a un hospedador usando cualesquiera métodos y vías disponibles convencionales para el suministro de fármacos convencionales, incluyendo vías sistémicas o localizadas. En general, las vías de administración contempladas por la invención incluyen, pero no se limitan necesariamente a, las vías enteral, parenteral o inhalatoria.

Las vías de administración parenteral distintas de la administración por inhalación incluyen, pero no se limitan necesariamente a, las vías tópica, transdérmica, subcutánea, intramuscular, intraorbital, intracapsular, intraespinal, intraesternal, intratumoral, peritumoral e intravenosa, es decir, cualquier vía de administración distinta de a través del canal alimentario. Puede llevarse a cabo administración parenteral para efectuar el suministro sistémico o local de un dimerizador. En caso de que se desee un suministro sistémico, la administración implica normalmente la administración invasiva o tópica o mucosal absorbida de manera sistémica de las preparaciones farmacéuticas.

También puede suministrarse un dimerizador al sujeto mediante administración enteral. Las vías de administración enterales incluyen, pero no se limitan necesariamente a, suministro oral y rectal (por ejemplo, usando un supositorio).

Por tratamiento se entiende al menos un alivio de los síntomas asociados con la patología que afecta al hospedador, usándose el término alivio en un sentido amplio para hacer referencia a al menos una reducción en la magnitud de un parámetro, por ejemplo, síntoma, asociado con la patología que se esté tratando, tal como un cáncer. Como tal, el tratamiento también incluye situaciones en las que la patología o al menos los síntomas asociados con la misma, se inhiben completamente, por ejemplo, se impide que se produzcan o se detienen, por ejemplo, se terminan, de tal forma que el hospedador deja de padecer la patología o al menos los síntomas característicos de la patología.

En algunas realizaciones, un dimerizador se administra por inyección y/o suministro, por ejemplo, a un sitio en la arteria cerebral o directamente al tejido cerebral. También puede administrarse directamente un dimerizador a un sitio diana, por ejemplo, por inyección directa, por implante de un dispositivo para el suministro de fármacos, tal como una bomba osmótica o una partícula de liberación lenta, por suministro biolístico al sitio diana, etc.

Terapia de combinación

En algunas realizaciones, se administra un dimerizador como terapia adyuvante para una terapia convencional para el cáncer. Las terapias convencionales para el cáncer incluyen cirugía (por ejemplo, eliminación quirúrgica de tejido canceroso), radioterapia, trasplante de médula ósea, tratamiento quimioterapéutico, tratamiento con anticuerpos, tratamiento con modificadores de la respuesta biológica y determinadas combinaciones de los anteriores.

La radioterapia incluye, pero sin limitación, rayos X o rayos gama que se suministran a través de una fuente externa, tal como un haz o mediante implante de pequeñas semillas radiactivas.

Los anticuerpos adecuados para su uso en el tratamiento del cáncer incluyen, pero sin limitación, anticuerpos desnudos, por ejemplo, trastuzumab (Herceptin), bevacizumab (Avastin™), cetuximab (Erbix™), panitumumab (Vectibix™), Ipilimumab (Yervoy™), rituximab (Rituxan), alemtuzumab (Lemtrada™), Ofatumumab (Arzerra™), Oregovomab (OvaRex™), Lambrolizumab (MK- 3475), pertuzumab (Perjeta™), ranibizumab (Lucentis™) etc. y anticuerpos conjugados, por ejemplo, gemtuzumab ozogamicina (Mylortarg™), Brentuximab vedotina (Adcetris™), ibritumomab tiuxetano marcado con ⁹⁰Y (Zevalin™), tositumomab marcado con ¹³¹I (Bexxar™), etc. Los anticuerpos adecuados para su uso en el tratamiento del cáncer incluyen, pero sin limitación, anticuerpos generados contra antígenos asociados a tumores. Dichos antígenos incluyen, pero sin limitación, CD20, CD30, CD33, CD52, EpCAM, CEA, gpA33, mucinas, TAG-72, CAIX, PSMA, proteína de unión a folato, gangliósidos (por ejemplo, GD2, GD3, GM2, etc.), Le^y, VEGF, VEGFR, integrina alfa-V-beta-3, integrina alfa-5-beta-1, EGFR, ERBB2, ERBB3, MET, IGF1R, EPHA3, TRAILR1, TRAILR2, RANKL, FAP, tenascina, etc.

Los modificadores de la respuesta biológica adecuados para su uso en conexión con los métodos de la presente divulgación incluyen, pero sin limitación, (1) inhibidores de la actividad de tirosina cinasa (RTK); (2) inhibidores de la actividad de serina/treonina cinasa; (3) antagonistas de antígenos asociados a tumores, tales como anticuerpos que se unen específicamente a un antígeno tumoral; (4) agonistas de receptores de apoptosis; (5) interleucina-2; (6) interferón-α; (7) interferón-γ; (8) factores estimulantes de colonias; (9) inhibidores de la angiogénesis; y (10) antagonistas del factor de necrosis tumoral.

Los agentes quimioterapéuticos son compuestos no peptídicos (es decir, no proteicos) que reducen la proliferación de las células cancerosas y abarcan agentes citotóxicos y agentes citostáticos. Los ejemplos no limitantes de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes, nitrosoureas, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, alcaloides vegetales (vinca) y hormonas esteroideas.

Se conocen y emplean ampliamente en la técnica agentes que actúan reduciendo la proliferación celular. Dichos agentes incluyen agentes alquilantes, tales como mostazas de nitrógeno, nitrosoureas, derivados de etilenimina,

sulfonatos de alquilo y triazenos, incluyendo, pero sin limitación, mecloretamina, ciclofosfamida (CytosanTM), melfalano (L-sarcolisina), carmustina (BCNU), lomustina (CCNU), semustina (metil-CCNU), estreptozocina, clorozotocina, mostaza de uracilo, clormetina, ifosfamida, clorambucilo, pipobromano, trietilenmelamina, trietilenotiofosforamina, busulfán, dacarbazina y temozolomida.

Los agentes antimetabolitos incluyen análogos del ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa, incluyendo, pero sin limitación, citarabina (CYTOSAR-U), arabinósido de citosina, fluorouracilo (5-FU), floxuridina (FudR), 6-tioguanina, 6-mercaptopurina (6-MP), pentostatina, 5-fluorouracilo (5-FU), metotrexato, 10-propargil-5,8-didesazafolato (PDDF, CB3717), ácido 5,8-didesazatetrahidrofólico (DDATHF), leucovorina, fosfato de fludarabina, pentostatina, y gemcitabina.

Los productos naturales adecuados y sus derivados, (por ejemplo, alcaloides de la vinca, antibióticos antitumorales, enzimas, linfocinas y epipodofilotoxinas), incluyen, pero sin limitación, Ara-C, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, azatioprina; brequinar; alcaloides, por ejemplo, vincristina, vinblastina, vinorelbina, vindesina, etc.; podofilotoxinas, por ejemplo, etopósido, tenipósido, etc.; antibióticos, por ejemplo, antraciclina, clorhidrato de daunorrubicina (daunomicina, rubidomicina, cerubidina), idarrubicina, doxorubicina, epirubicina y derivados de morfolino, etc.; bisciclopéptidos defenoxizona, por ejemplo, dactinomicina; glucopéptidos básicos, por ejemplo, bleomicina; glucósidos de antraquinona, por ejemplo, plicamicina (mitramicina); antracenodionas, por ejemplo, mitoxantrona; azirinopirrol indoldionas, por ejemplo, mitomicina; inmunosupresores macrocíclicos, por ejemplo, ciclosporina, FK-506 (tacrolimus, prograf), rapamicina, etc.; y similares.

Otros agentes citotóxicos antiproliferativos son navelbeno, CPT-11, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafina, ciclofosfamida, ifosamida, y droloxafina.

También es adecuado el uso de agentes que afectan a los microtúbulos que tienen actividad antiproliferativa e incluyen, pero sin limitación, alocolchicina (NSC 406042), halicondrina B (NSC 609395), colchicina (NSC 757), derivados de la colchicina (por ejemplo, NSC 33410), dolastatina 10 (NSC 376128), maitansina (NSC 153858), rizoxina (NSC 332598), paclitaxel (Taxol®), derivados de Taxol®, docetaxel (Taxotere®), tiocolchicina (NSC 361792), tritil cisteína, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, epotilonas naturales y sintéticas, incluyendo, pero sin limitación, epotilona A, epotilona B, discodermolida; estramustina, nocodazol y similares.

Los moduladores de hormonas y los esteroides (incluyendo análogos sintéticos) que son adecuados para su uso incluyen, pero sin limitación, adrenocorticoesteroides, por ejemplo, prednisona, dexametasona, etc.; estrógenos y progestinas, por ejemplo, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, estradiol, clomifeno, tamoxifeno; etc.; y supresores adrenocorticales, por ejemplo, aminoglutetimida; 17 α -etinilestradiol; dietilestilbestrol, testosterona, fluoximesterona, propionato de dromostanolona, testolactona, metilprednisolona, metiltestosterona, prednisolona, triamcinolona, clorotrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutetimida, estramustina, acetato de medroxiprogesterona, leuprolida, flutamida (Drogenil), toremifeno (Fareston) y Zoladex®. Los estrógenos estimulan la proliferación y diferenciación, por lo tanto, los compuestos que se unen al receptor de estrógenos se usan para bloquear esta actividad. Los corticosteroides pueden inhibir la proliferación de los linfocitos T.

Otros agentes quimioterapéuticos incluyen complejos metálicos, por ejemplo, cisplatino (cis-DDP), carboplatino, etc.; ureas, por ejemplo, hidroxihidrea; e hidrazinas, por ejemplo, N-metilhidrazina; epidofilotoxina; un inhibidor de topoisomerasa; procarbazona; mitoxantrona; leucovorina; tegafur; etc. Otros agentes antiproliferativos de interés incluyen inmunosupresores, por ejemplo, ácido micofenólico, talidomida, desoxiespergualina, azasporina, leflunomida, mizoribina, azaspirano (SKF 105685); Iressa® (ZD 1839, 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxi-6-(3-(4-morfolinil)propoxi)quinazolina); etc.

Los "taxanos" incluyen paclitaxel, así como cualquier derivado o profármaco activo de los taxanos. El "paclitaxel" (que debe entenderse que en el presente documento incluye análogos, formulaciones y derivados tales como, por ejemplo, docetaxel, TAXOLTM, TAXOTERETM (una formulación de docetaxel), análogos de 10-desacetil del paclitaxel y análogos de 3'-N-desbenzoil-3'-N-t-butoxicarbonilo del paclitaxel) pueden prepararse fácilmente utilizando técnicas conocidas por los expertos en la materia (véanse también los documentos WO 94/07882, WO 94/07881, WO 94/07880, WO 94/07876, WO 93/23555, WO 93/10076; las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.294.637; 5.283.253; 5.279.949; 5.274.137; 5.202.448; 5.200.534; 5.229.529; y el documento EP 590.267) o se obtienen de una serie de fuentes comerciales, incluyendo, por ejemplo, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. (T7402 de *Taxus brevifolia*; o T-1912 de *Taxus yunnanensis*).

Debe entenderse que el paclitaxel se refiere no solo a la forma común químicamente disponible del paclitaxel, sino a análogos y derivados (por ejemplo, TaxotereTM docetaxel, como se ha indicado anteriormente) y a conjugados de paclitaxel (por ejemplo, paclitaxel-PEG, paclitaxel-dextrano o paclitaxel-xilosa).

También se incluye dentro del término "taxano" una serie de derivados conocidos, incluyendo tanto derivados hidrófilos como derivados hidrófobos. Los derivados del taxano incluyen, pero sin limitación, los derivados de galactosa y manosa descritos en la Solicitud Internacional de Patente n.º WO99/18113; los derivados de piperazino y otros

descritos en el documento WO 99/14209; los derivados del taxano descritos en los documentos WO 99/09021, WO 98/22451 y en la Patente de los Estados Unidos n.º 5.869.680; los derivados de 6-tio descritos en el documento WO 98/28288; los derivados de sulfenamida descritos en la Patente de los Estados Unidos n.º 5.821.263; y los derivados del taxol descritos en la Patente de los Estados Unidos n.º 5.415.869. Además, incluye profármacos del paclitaxel incluyendo, pero sin limitación, aquellos descritos en los documentos WO 98/58927; WO 98/13059; y en la Patente de los Estados Unidos n.º 5.824.701.

SUJETOS ADECUADOS PARA TRATAMIENTO

Hay varios sujetos adecuados para su tratamiento con uno de los presentes métodos para tratar el cáncer. Los sujetos adecuados incluyen cualquier individuo, por ejemplo, un ser humano o un animal no humano que tenga cáncer, al que se le haya diagnosticado un cáncer, que se encuentre en riesgo de desarrollar un cáncer, que haya tenido un cáncer o que tenga riesgo de recurrencia del cáncer, que haya sido tratado con un agente distinto de un dimerizador para el cáncer y que no haya tenido una respuesta a dicho tratamiento o que se haya tratado con un agente distinto de un dimerizador para el cáncer pero que haya tenido una recidiva después de una respuesta inicial a dicho tratamiento.

Los sujetos adecuados para el tratamiento con uno de los presentes métodos inmunomoduladores incluyen individuos que tengan un trastorno autoinmunitario; individuos que sean receptores de trasplantes de órganos o tejidos; y similares; individuos que se encuentren inmunocomprometidos; e individuos que estén infectados por un patógeno.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos habituales en la materia una divulgación y descripción completa de cómo preparar y usar la presente invención y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención y pretenden representar que los experimentos a continuación sean todos o los únicos experimentos llevados a cabo. Se han practicado esfuerzos para garantizar la precisión respecto de los números empleados (por ejemplo, cantidades, la temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es un peso molecular promedio, la temperatura está en grados Celsius y la presión es la atmosférica o próxima a esta. Pueden emplearse abreviaturas convencionales, por ejemplo, pb, pares de bases; kb, kilobases; pl, picolitros; s, segundos; min, minutos; h, horas; aa, aminoácidos; kb, kilobases; pb, pares de bases; nt, nucleótidos; i.m., por vía intramuscular; i.p., por vía intraperitoneal; s.c., por vía subcutánea; i.v., por vía intravenosa; y similares.

Ejemplo 1: Generación de CAR

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó el scFv anti-CD19 humano como dominio de reconocimiento de antígenos en los CAR durante el proceso de optimización del diseño. Las figuras 18A y 18B resumen la estructura molecular de cada CAR que consiste en dos polipéptidos identificados numéricamente. Todos los polipéptidos anclados a membrana son homodímeros unidos por disulfuro. Los polipéptidos anclados a membrana se representan como monómeros por simplicidad gráfica.

Generación de las construcciones de CAR

Se clonó la secuencia que codifica el scFv anti-CD19 humano a partir de una construcción. Se clonaron las cadenas de coestimulación de 4-1BB y de señalización de ITAM CD3 zeta a partir de los ADNc suministrados por Open Biosystems. Las secuencias que codificaban FKBP y FRB se clonaron a partir de plásmidos suministrados por Addgene.

Se aplicaron técnicas de clonación molecular convencionales (reacción en cadena de la polimerasa (PRC), digestión de restricción, ligamiento, etc.) para generar plásmidos de expresión lentivíricos.

Condiciones de cultivo de células efectoras y diana

Se aislaron linfocitos T CD8+ humanos primarios de sangre de donantes anónimos tras su aféresis (restos de Trima de Blood Centers of the Pacific, San Francisco, CA) mediante selección negativa usando cóctel de enriquecimiento de linfocitos T CD8+ humanos RosetteSep (STEMCELL Technologies n.º 15063) según fue aprobado por el Comité de Revisión Institucional de la Universidad. Las células se cultivaron en medio para linfocitos T humanos, que consistía en X-VIVO15 (Lonza, n.º 04-418Q), suero AB humano al 5 % (Valley Biomedical Inc., n.º HP1022), N-acetil L-cisteína 10 mM (Sigma-Aldrich, n.º A9165) y 100 UI/ml de IL-2 humana recombinante (Repositorio Preclínico NCI/BRB). Se mantuvo una línea de células Jurkat que expresan la proteína fluorescente verde (GFP) tras la activación de NFAT en medio RPMI-1640 complementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %, penicilina y estreptomycin. Se cultivaron células diana K562 de la U. Penn en IMDM complementado con FBS al 10 %.

Modificación de células efectoras y diana con lentivirus

Se produjo lentivirus pseudotipado de VSV-G pantrópico en células Lenti-X 293T (Clontech Laboratories, n.º 632180) co-transfectadas con un vector de expresión para el transgén pHR'SIN:CSW, los plásmidos de empaquetado vírico pCMVdR8.91 y pMD2.G usando Lipofectamine LTX (Life Technologies, n.º 15338). El sobrenadante del medio de infección se recogió 48 horas después de la transfección y se usó directamente para la transducción.

Veinticuatro horas después antes de la transducción con virus, se activaron linfocitos T humanos usando Dynabeads activadoras de CD3/CD28-T humanos (Life Technologies, n.º 111-31D) a una relación de células:perlas de 1:3. Las células Jurkat y K562 se dividieron 1~2 días antes para asegurarse de que los cultivos se encontrasen en fase logarítmica en el momento de la transducción. Las células Jurkat y K562 transducidas se cultivaron durante al menos 7 días antes de llevar a cabo los experimentos. Los linfocitos T primarios se mantuvieron a $\sim 10^6$ /ml en medio para linfocitos T humanos durante aproximadamente dos semanas hasta que las células regresaron al estado de reposo. Se cuantificaron los niveles de expresión de los CAR codificados en las construcciones lentivíricas detectando los anticuerpos conjugados al fluoróforo o las proteínas indicadoras fluorescentes usando un citómetro de flujo.

15 Cuantificación de la producción de IL-2 y de la actividad de NFAT

Los linfocitos T CD4+ Jurkat que expresaban los CAR se mezclaron con células diana afines o no afines K562 de la U. Penn a una relación de efectoras:diana de 1:2. Se diluyó en serie el heterodimerizador rapálogo A/C (Clontech Laboratories, n.º 635055) en medio y se añadió a las mezclas de reacción. Después de 20-24 horas de incubación, se recogieron los sobrenadantes de cultivo y se analizaron con el set de ELISA para IL-2 humana BD OptEIA (BD Biosciences, n.º 555190). Se llevó a cabo una citometría de flujo para cuantificar la expresión indicadora de GFP dependiente de NFAT en células Jurkat como indicador separado de la actividad de CAR.

25 Ensayo de citotoxicidad redirigida basado en citometría de flujo

Se modificaron por ingeniería genética las células diana afines y no afines K562 para que expresasen diferentes proteínas fluorescentes, de tal forma que ambos tipos de células en una mezcla se cuantificasen por citometría de flujo. Los tipos de célula diana se mezclaron a una proporción de 1:1 y se incubaron conjuntamente con linfocitos T CD8+ efectores primarios humanos a una relación de efector:diana de 5:2. Se añadieron 100 UI/ml de IL-2 humana y diversas cantidades del rapálogo (Clontech Laboratories, n.º 635055) a las mezclas de reacción. Después de 24 horas de incubación, se centrifugaron las muestras a 400g durante 5 minutos. El sedimento de células se resuspendió en tampón de lavado (PBS + BSA al 0,5 % + azida de sodio al 0,1 %) y se fijó con un volumen igual de BD Cytotfix (BD, n.º cat. 554655) antes de la citometría de flujo. Se calcularon las proporciones de las células diana afines supervivientes a células diana no afines para cada muestra para enumerar las actividades citotóxicas redirigidas de las células efectoras.

RESULTADOS

Se evaluó la producción de IL-2 provocada por las diversas construcciones de CAR. Los datos se presentan en la figura 12.

Figura 12. Producción de IL-2 desencadenada por cinco variantes de centro activo de CAR. Efector = linfocitos T CD4+ Jurkat humanos modificados por ingeniería genética con CAR. Diana = líneas celulares K562 con o sin el antígeno afín CD19. Se cuantificaron las cantidades de IL-2 secretadas por las células efectoras mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

Figura 13. Producción de IL-2 por líneas de control Jurkat en un experimento igual al descrito en la figura 12. La construcción "125" codifica un control convencional usado en la actualidad en ensayos clínicos.

Figura 14. Comparación entre "122 + 206" y "197 + 206" en un experimento separado en condiciones idénticas a aquellas descritas en la figura 12.

La figura 15 demuestra la citotoxicidad titulable desde el punto de vista farmacológico conferida por el centro activo de CAR "197+206". En presencia del rapálogo de molécula pequeña, el CAR media de manera eficaz la citotoxicidad redirigida frente a las células diana afines. A altas dosis de rapálogo, este centro activo de CAR puede señalar con la misma fuerza que el CAR convencional "125". Efector = linfocitos T CD8+ humanos modificados con CAR o un vector de control. Diana = derivados fluorescentes de líneas celulares K562 que expresan el antígeno afín CD19 humano o el antígeno de mesotelina humano no afín.

La figura 16 representa datos para CAR construidos con la tirosina cinasa citoplasmática Zap70 de la vía del receptor de linfocitos T como dominio de señalización intracelular.

La figura 16 muestra datos de células Jurkat modificadas con diversas variantes de centros activos de CAR. Las células Jurkat se incubaron conjuntamente con células diana K562 con o sin el antígeno afín (CD19) y las concentraciones indicadas de rapálogo. Como componente de CAR, la Zap70 cinasa (estructuras primera y segunda por la izquierda que muestran un "199") fue eficaz como ITAM (tercera estructura desde la izquierda que muestra un

"168") para activar la función de NFAT. La adición del dominio de señalización de 4-1BB aumentó la expresión superficial de la porción de reconocimiento de antígeno del receptor y dio lugar a una señalización más fuerte por "197+199". Se incluyó un CAR sin señalización (último por la izquierda) como control negativo.

5 Ejemplo 2: CAR que se dirigen a mesotelina

MATERIALES Y MÉTODOS

10 Se preparó y probó una serie de construcciones de receptor de antígeno quimérico. Las construcciones mostradas en el presente documento codifican tres scFv anti-mesotelina humana diferentes como dominios de reconocimiento de antígeno. Las figuras 19A, 19B y 19C resumen la estructura molecular de cada CAR anti-mesotelina humana, comprendiendo cada CAR dos polipéptidos. La porción intercelular de cada CAR anti-mesotelina humana comprende dos dominios coestimuladores 4-1BB, un par de unión al dimerizador FKBP y FRB y un dominio de señalización intracelular ITAM. Los tres dominios de reconocimiento de antígenos diferentes mostrados en este caso son scFv anti-mesotelina HN1, scFv SS1 y scFv m912. Todos los polipéptidos anclados a membrana son homodímeros unidos por disulfuro.

Generación de las construcciones de CAR

20 Las secuencias que codifican el anti-mesotelina se clonaron a partir de construcciones o se sintetizaron mediante ensamblaje génico mediante la PCR. Se clonaron las cadenas de coestimulación de 4-1BB y de señalización de ITAM CD3 zeta a partir de los ADNc suministrados por Open Biosystems. Las secuencias codificantes del scFv HN1, el scFv SS1 y el scFv m912 se sintetizaron mediante la PCR y, en algunos casos, se optimizaron por codones. Las secuencias que codificaban FKBP y FRB se clonaron a partir de plásmidos de Addgene.

25 Se aplicaron técnicas de clonación molecular convencionales (reacción en cadena de la polimerasa (PRC), digestión de restricción, ligamiento, etc.) para generar plásmidos de expresión lentivíricos.

Condiciones de cultivo de células efectoras y diana

30 Se mantuvo una línea de células Jurkat que expresan GFP tras la activación de NFAT en medio RPMI-1640 complementado con FBS al 10 %, penicilina y estreptomycin. Las células diana K562 se cultivaron en IMDM complementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %.

Modificación de células efectoras y diana con lentivirus

35 Se produjo lentivirus pseudotipado de VSV-G pantrópico en células Lenti-X 293T (Clontech Laboratories, n.º 632180) co-transfectadas con un vector de expresión para el transgén pHR'SIN:CSW, los plásmidos de empaquetado vírico pCMVdR8.91 y pMD2.G usando Lipofectamine LTX (Life Technologies, n.º 15338). El sobrenadante del medio de infección se recogió 48 horas después de la transfección y se usó directamente para la transducción.

45 Las células Jurkat y K562 se dividieron 1~2 días antes para asegurarse de que los cultivos se encontrasen en fase logarítmica en el momento de la transducción. Las células Jurkat y K562 transducidas se cultivaron durante al menos 7 días antes de llevar a cabo los experimentos. Se cuantificaron los niveles de expresión de los CAR codificados en las construcciones lentivíricas detectando los anticuerpos conjugados al fluoróforo o las proteínas indicadoras fluorescentes usando un citómetro de flujo.

Cuantificación de la producción de IL-2

50 Los linfocitos T CD4+ Jurkat que expresaban los CAR se mezclaron con células diana afines o no afines K562 a una relación de efectoras:diana de 1:2. Se diluyó en serie el heterodimerizador rapálogo A/C (Clontech Laboratories, n.º 635055) en medio y se añadió a las mezclas de reacción. Después de 20~24 horas de incubación, se recogieron los sobrenadantes de cultivo y se analizaron con el set de ELISA para IL-2 humana BD OptEIA (BD Biosciences, n.º 555190).

55 **RESULTADOS**

Se evaluó la producción de IL-2 provocada por las construcciones de CAR anti-mesotelina. Los datos se presentan en las figuras 19D-F.

60 Figura 19. Producción de IL-2 desencadenada por las variantes de centro activo de CAR scFv HN1 (Fig. 19D), scFv SS1 (Fig. 19E) y scFv m912 (Fig. 19F). Se midió la producción de IL-2 por un CAR convencional (Fig. 19G, construcción n.º 358) y se incluyó por comparación a los centros activos de CAR (Fig. 19D). Efecto = linfocitos T CD4+ Jurkat humanos modificados por ingeniería genética con CAR. Diana = líneas celulares K562 con o sin el antígeno afín mesotelina. Se cuantificaron las cantidades de IL-2 secretadas por las células efectoras mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

Ejemplo 3: Ácido giberélico como dimerizador de los centros activos de CAR**MATERIALES Y MÉTODOS**

La figura 20A resume la estructura molecular del dimerizador de CAR de ácido giberélico objeto. La porción de unión a antígeno comprende el scFv anti-CD19 humano. La porción intracelular comprende dos dominios coestimuladores 4-1BB, un par de unión al dimerizador GID1 y GAL y un dominio de señalización intracelular ITAM. Todos los polipéptidos anclados a membrana son homodímeros unidos por disulfuro.

Generación de las construcciones de CAR

Las secuencias que codifican el CAR de dimerizador de ácido giberélico se clonaron a partir de construcciones. El scFv anti-CD19 se clonó a partir de un plásmido. Se clonaron las cadenas de coestimulación de 4-1BB y de señalización de ITAM CD3 zeta a partir de los ADNc suministrados por Open Biosystems. Las secuencias que codificaban GID1 y GAL se clonaron a partir de plásmidos de Addgene. Se aplicaron técnicas de clonación molecular convencionales (reacción en cadena de la polimerasa (PRC), digestión de restricción, ligamiento, etc.) para generar plásmidos de expresión lentivíricos.

Condiciones de cultivo de células efectoras y diana

Se mantuvo una línea de células Jurkat que expresan GFP tras la activación de NFAT en medio RPMI-1640 complementado con FBS al 10 %, penicilina y estreptomycin. Las células diana K562 se cultivaron en IMDM complementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 %.

Modificación de células efectoras y diana con lentivirus

Se produjo lentivirus pseudotipado de VSV-G pantrópico en células Lenti-X 293T (Clontech Laboratories, n.º 632180) co-transfectadas con un vector de expresión para el transgén pHR' SIN:CSW, los plásmidos de empaquetado vírico pCMVdR8.91 y pMD2.G usando Lipofectamine LTX (Life Technologies, n.º 15338). El sobrenadante del medio de infección se recogió 48 horas después de la transfección y se usó directamente para la transducción.

Las células Jurkat y K562 se dividieron 1~2 días antes para asegurarse de que los cultivos se encontrasen en fase logarítmica en el momento de la transducción. Las células Jurkat y K562 transducidas se cultivaron durante al menos 7 días antes de llevar a cabo los experimentos. Se cuantificaron los niveles de expresión de los CAR codificados en las construcciones lentivíricas detectando los anticuerpos conjugados al fluoróforo o las proteínas indicadoras fluorescentes usando un citómetro de flujo.

Cuantificación de la producción de IL-2

Los linfocitos T CD4+ Jurkat que expresaban los CAR se mezclaron con células diana afines o no afines K562 a una relación de efectoras:diana de 1:2. Se diluyó el 3-acetoximetil éster del ácido giberélico (ácido giberélico-3 AM) disuelto previamente en etanol (Toronto Research Chemicals, n.º G377500) en medio de crecimiento y se añadió a las mezclas de reacción. El ácido giberélico (ácido giberélico-3 AM) se usó a 10 mM. Después de 20-24 horas de incubación, se recogieron los sobrenadantes de cultivo y se analizaron con el set de ELISA para IL-2 humana BD OptEIA (BD Biosciences, n.º 555190).

RESULTADOS

Se evaluó la producción de IL-2 provocada por la construcción de CAR de dimerizador de ácido giberélico. Los datos se presentan en la figura 20.

Figura 20. Producción de IL-2 desencadenada por la variante de CAR de dimerizador de ácido giberélico (Fig. 20B). Se midió la producción de IL-2 por un CAR convencional (Fig. 20C, construcción "125") y se incluyó por comparación a los centros activos de CAR. Efector = linfocitos T CD4+ Jurkat humanos modificados por ingeniería genética con CAR. Diana = líneas celulares K562 con o sin el antígeno afín CD19. Se cuantificaron las cantidades de IL-2 secretadas por las células efectoras mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

Ejemplo 4: Centros activos de CAR con diversos dominios coestimuladores**MATERIALES Y MÉTODOS**

Se preparó una serie de construcciones de receptor de antígeno quiméricos esencialmente como se ha descrito en el ejemplo 1, salvo que se cambiaron varios dominios coestimuladores por los dominios coestimuladores 4-1BB. Las figuras 21A y 21B resumen la estructura molecular de los CAR descritos en este ejemplo.

Generación de las construcciones de CAR

Las secuencias que codifican el scFv anti-CD19 humano se clonaron a partir de un plásmido. Se clonaron las secuencias codificantes de la cadena de señalización de ITAM de CD3 zeta y los dominios coestimuladores humanos CD28 y OX-40 a partir de los ADNc suministrados por Open Biosystems. Las secuencias que codificaban FKBP y FRB se clonaron a partir de plásmidos de Addgene.

Se aplicaron técnicas de clonación molecular convencionales (reacción en cadena de la polimerasa (PRC), digestión de restricción, ligamiento, etc.) para generar plásmidos de expresión lentivíricos.

Prueba de las construcciones de CAR

Las células efectoras y diana se cultivaron y transfectaron de acuerdo con el ejemplo 1 usando las construcciones que contienen el centro activo de CAR CD28 y el dominio coestimulador OX-40 (Fig. 21A-B, construcciones "365+367" y "399+400", respectivamente) y los controles de CAR convencionales correspondientes (Fig. 21C-D, construcciones "366" y "398", respectivamente). Los ensayos de producción de IL-2, de actividad de NFAT y los ensayos basados en citometría de flujo también pueden llevarse a cabo con la construcción que contiene el dominio coestimulador de CD28 y la construcción que contiene el dominio coestimulador de OX-40, como se ha descrito para el ejemplo 1. Como alternativa, pueden emparejarse subunidades de las construcciones que contiene dominio coestimulador de CD28 y OX-40 de centro activo de CAR con subunidades de las construcciones del ejemplo 1 (por ejemplo, "197+367", "365+206", "197+400", "399+206", etc.).

Ejemplo 5: Evaluación *in vivo* de centro activo de CAR

Puede evaluarse la capacidad de un centro activo de CAR para mediar la eliminación *in vivo* de una célula tumoral diana. Se evaluó la eliminación de células tumorales *in vivo* mediante la inyección de linfocitos T que expresan los centros activos de CAR. Se usan líneas de células tumorales en las que se ha confirmado *in vitro* que expresan el antígeno afín y que pueden eliminarse por linfocitos T CD8+ que expresan el CAR correspondiente. Pueden emplearse células tumorales modificadas por ingeniería genética para que expresen luciferasa de luciérnaga o de Renilla para posibilitar la obtención de imágenes de bioluminiscencia para cuantificar la carga tumoral *in vivo*. Se inyectaron células tumorales a ratones inmunocomprometidos (por ejemplo, ratones NOD *scid* gamma (NSG) hembra de 6~10 semanas de edad) por vía subcutánea para modelos tumorales subcutáneos o por vía intravenosa para modelos tumorales sistémicos. El método de implante del tumor y el número óptimo de células a implantar pueden estar basados en las condiciones óptimas para la línea celular tumoral empleada. La carga tumoral puede monitorizarse dos veces a la semana obteniendo imágenes de bioluminiscencia y mediante mediciones con calibre, según sea adecuado. En el momento en que la carga tumoral es detectable, se inyecta por vía intravenosa un total de $0,5-2,5 \times 10^7$ linfocitos T (CD4+:CD8+ 1:1) que expresan el centro activo de CAR a los ratones para iniciar el tratamiento. Se administra un fármaco de molécula pequeña dimerizador (por ejemplo, rapálogo) por vía intraperitoneal en una formulación de vehículo. Los linfocitos T que expresan el centro activo de CAR pueden inyectarse de manera repetida durante el experimento para mejorar el efecto antitumoral. Puede administrarse interleucina-2 (IL-2) para mejorar el efecto antitumoral.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Los Regentes de la Universidad de California

<120> RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO Y MÉTODOS DE USO DEL MISMO

<130> KSG/FP7290919

<140> EP

<141> 14-02-2014

<150> EP14751227.1

<151> 14-02-2014

<150> PCT/US2014/016527

<151> 14-02-2014

<150> US61/765.585

<151> 15-02-2013

<160> 145

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> polinucleótido sintético
 <400> 1
 10
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgetgctoca cgcgcgcagg 60
ccg 63
 <210> 2
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> polipéptido sintético
 20
 <400> 2
 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
 25 <210> 3
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> polinucleótido sintético
 <400> 3
gagcagaagc tgatcagcga ggaggacctg 30
 35 <210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> polipéptido sintético
 <400> 4
 45 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
 1 5 10
 50 <210> 5
 <211> 726
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> polinucleótido sintético

<400> 5

5

gacatccaga	tgacacagac	tacatcctcc	ctgtctgcct	ctctgggaga	cagagtcacc	60
atcagttgca	gggcaagtca	ggacattagt	aaatatttaa	attggtatca	gcagaaacca	120
gatggaactg	ttaaactcct	gatctaccat	acatcaagat	tacactcagg	agtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtgggtc	tggaacagat	tattctctca	ccattagcaa	cctggagcaa	240
gaagatattg	ccacttactt	ttgccaacag	ggtaatacgc	ttccgtacac	gttcggaggg	300
gggaccaagc	tggagatcac	aggtggcggt	ggctcgggcg	gtggtgggtc	gggtggcggc	360
ggatctgagg	tgaactgca	ggagtcagga	cctggcctgg	tggcgccctc	acagagcctg	420
tccgtcacat	gcactgtctc	aggggtctca	ttacccgact	atggtgtaag	ctggattcgc	480
cagcctccac	gaaagggctc	ggagtggctg	ggagtaatat	ggggtagtga	aaccacatac	540
tataattcag	ctctcaaata	cagactgacc	atcatcaagg	acaactccaa	gagccaagtt	600
ttcttaaaaa	tgaacagtct	gcaaactgat	gacacagcca	tttactactg	tgccaaacat	660
tattactacg	gtggtagcta	tgctatggac	tactggggcc	aaggaacctc	agtcaccgtc	720
tcctca						726

<210> 6

<211> 242

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 6

10

15

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

	<211> 207	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> polinucleótido sintético	
	<400> 7	
	accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccacgcgcgc gcagccccctg	60
	tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg	120
	gacttcgcct gtgatatacta catctgggcg cccttgcccg ggacttgtgg ggtccttctc	180
10	ctgtcactgg ttatcacctt ttactgc	207
	<210> 8	
	<211> 69	
	<212> PRT	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> polipéptido sintético	
20	<400> 8	
	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	
25	<210> 9	
	<211> 30	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> polinucleótido sintético	
	<400> 9	
	tccctaggaa gcgggtccgg tagcggatct	30
35	<210> 10	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	

<223> polipéptido sintético

<400> 10

Ser Leu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10

5

<210> 11

<211> 324

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> polinucleótido sintético

15 <400> 11

```
atgggaggtcc aggtggaaac catctcccca ggagacgggc gcaccttccc caagcgcggc      60
cagacctgcg tgggtgacta caccgggatg cttgaagatg gaaagaaatt tgattcctcc      120
cgggacagaa acaagccctt taagtttatg ctaggcaagc aggaggtgat ccgaggctgg      180
gaagaagggg ttgccagat gagtgtgggt cagagagcca aactgactat atctccagat      240
tatgcctatg gtgccactgg gcacccaggc atcatcccac cacatgccac tctcgtcttc      300
gatgtggagc ttctaaaact ggaa                                     324
```

<210> 12

20 <211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> polipéptido sintético

<400> 12

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

Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu
20 25 30

Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys
35 40 45

Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val
50 55 60

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

65					70					75					80
Tyr	Ala	Tyr	Gly	Ala	Thr	Gly	His	Pro	Gly	Ile	Ile	Pro	Pro	His	Ala
				85					90					95	

Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu
100 105

<210> 13
<211> 282
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 13

atgatcctct	ggcatgagat	gtggcatgaa	ggcctggaag	aggcattctcg	tttgtacttt	60
ggggaaagga	acgtgaaagg	catgtttgag	gtgctggagc	ccttgcatgc	tatgatggaa	120
cggggccccc	agactctgaa	ggaaacatcc	tttaatcagg	cctatggtcg	agatttaatg	180
gaggcccaag	agtgggtgcag	gaagtacatg	aaatcaggga	atgtcaagga	cctcctccaa	240
gcctgggaoc	tctattatca	tgtgttccga	cgaatctcaa	ag		282

<210> 14
<211> 94
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 14

Met Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser
1 5 10 15

Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu
20 25 30

Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu
35 40 45

Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu
50 55 60

Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln
65 70 75 80

Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys
85 90

	<210> 15		
	<211> 30		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
5	<220>		
	<223> polinucleótido sintético		
	<400> 15		
10	ggaagcgggt ccggtagcgg atcttccta		30
	<210> 16		
	<211> 10		
	<212> PRT		
15	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> polipéptido sintético		
20	<400> 16		
	Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Ser Leu		
	1 5 10		
	<210> 17		
25	<211> 336		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
30	<223> polinucleótido sintético		
	<400> 17		
	agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc	60	
	tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttgacaa gagacgtggc	120	
	cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat	180	
	gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc	240	
	cggaggggca aggggcacga tggcctttac caggggtctca gtacagccac caaggacacc	300	
	tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc	336	
35	<210> 18		
	<211> 112		
	<212> PRT		
	<213> Secuencia artificial		
40	<220>		
	<223> polipéptido sintético		
	<400> 18		
45	Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly		
	1 5 10 15		

ES 2 758 227 T3

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

<210> 19

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polinucleótido sintético

<400> 19

tcgcgaggaa gcgggtccgg tagcggatct

30

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 20

Ser Arg Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10

<210> 21

<211> 708

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polinucleótido sintético

<400> 21

atggtgagca agggcgagga ggataacatg gccatcatca aggagtcat gcgcttcaag

60

gtgcacatgg agggctccgt gaacggccac gagttcgaga tcgagggcga gggcgagggc

120

cgccccctacg agggcaccca gaccgccaag ctgaagggtga ccaagggtgg cccctgccc 180
 ttgcctctggg acatcctgtc cctcagttc atgtacggct ccaaggccta cgtgaagcac 240
 cccgcccagaca tccccgacta cttgaagctg tccttccccg agggcttcaa gtgggagcgc 300
 gtgatgaact tcgaggaagg cggcgtggtg accgtgaccc aggactctc cctgcaggac 360
 ggcgagttca tctacaaggt gaagctgctg ggcaccaact tcccctccga cggccccgta 420
 atgcagaaga agaccatggg ctgggaggcc tcctccgagc ggatgtaccc cgaggacggc 480
 gccctgaagg gcgagatcaa gcagaggctg aagctgaagg acggcggcca ctacgacgct 540
 gaggtcaaga ccacctacaa ggccaagaag cccgtgcagc tgcccggcgc ctacaacgtc 600
 aacatcaagt tggacatcac ctcccacaac gaggactaca ccatcgtgga acagtacgaa 660
 cgcgccgagg gccgccactc caccggcggc atggacgagc tgtacaag 708

<210> 22
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polipéptido sintético

<400> 22

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Asp Asn Met Ala Ile Ile Lys Glu Phe
 1 5 10 15

Met Arg Phe Lys Val His Met Glu Gly Ser Val Asn Gly His Glu Phe
 20 25 30

Glu Ile Glu Gly Glu Gly Glu Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Thr
 35 40 45

Ala Lys Leu Lys Val Thr Lys Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Trp Asp
 50 55 60

Ile Leu Ser Pro Gln Phe Met Tyr Gly Ser Lys Ala Tyr Val Lys His
 65 70 75 80

Pro Ala Asp Ile Pro Asp Tyr Leu Lys Leu Ser Phe Pro Glu Gly Phe
 85 90 95

Lys Trp Glu Arg Val Met Asn Phe Glu Asp Gly Gly Val Val Thr Val
 100 105 110

Thr Gln Asp Ser Ser Leu Gln Asp Gly Glu Phe Ile Tyr Lys Val Lys
 115 120 125

Leu Arg Gly Thr Asn Phe Pro Ser Asp Gly Pro Val Met Gln Lys Lys
130 135 140

Thr Met Gly Trp Glu Ala Ser Ser Glu Arg Met Tyr Pro Glu Asp Gly
145 150 155 160

Ala Leu Lys Gly Glu Ile Lys Gln Arg Leu Lys Leu Lys Asp Gly Gly
165 170 175

His Tyr Asp Ala Glu Val Lys Thr Thr Tyr Lys Ala Lys Lys Pro Val
180 185 190

Gln Leu Pro Gly Ala Tyr Asn Val Asn Ile Lys Leu Asp Ile Thr Ser
195 200 205

His Asn Glu Asp Tyr Thr Ile Val Glu Gln Tyr Glu Arg Ala Glu Gly
210 215 220

Arg His Ser Thr Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
225 230 235

<210> 23

<211> 126

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> polinucleótido sintético

<400> 23

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120

gaactg 126

15 <210> 24

<211> 42

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> polipéptido sintético

<400> 24

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

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30

25 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

5 <210> 25
<211> 336
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polinucleótido sintético

10 <400> 25

```

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc      60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggacaa gagacgtggc      120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat      180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc      240
cggagggggc aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc      300
tacgacgccc ttcacatgca ggcctgcct cctcgc      336

```

15 <210> 26
<211> 112
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> polipéptido sintético

<400> 26

```

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys 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

```

25 <210> 27
<211> 144

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> polinucleótido sintético
 <400> 27
 atgatccatc tgggtcacat cctcttcctg cttttgctcc cagtggctgc agctcagacg 60
 actccaggag agagatcatc actccctgcc ttttaccctg gcacttcagg ctcttgttcc 120
 ggatgtgggt ccctctctct gccg 144
 10
 <210> 28
 <211> 48
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> polipéptido sintético
 <400> 28
 20
 Met Ile His Leu Gly His Ile Leu Phe Leu Leu Leu Leu Pro Val Ala
 1 5 10 15
 Ala Ala Gln Thr Thr Pro Gly Glu Arg Ser Ser Leu Pro Ala Phe Tyr
 20 25 30
 Pro Gly Thr Ser Gly Ser Cys Ser Gly Cys Gly Ser Leu Ser Leu Pro
 35 40 45
 25
 <210> 29
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> polinucleótido sintético
 <400> 29
 atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggctcc ttctcctgtc actggttatc 60
 accctttact gc 72
 35
 <210> 30
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> polipéptido sintético
 <400> 30

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> 31
<211> 48
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 31
ggttccggca gcggatctgg tagcgggaagc gggccggta gcggatct

48

<210> 32
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 32

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10 15

<210> 33
<211> 279
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 33

atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc ctggaagagg catctcgttt gtactttggg 60

gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgagggtg ctggagccct tgcattgctat gatggaacgg 120

ggccccaga ctctgaagga aacatccttt aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag 180

gccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa tcagggaatg tcaaggacct cctccaagcc 240

tgggacctct attatcatgt gttccgacga atctcaaag 279

<210> 34
<211> 93
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 34

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys
85 90

<210> 35
<211> 1857
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 35

atgccagacc ccgcgggcgca tctgcccttc ttctacggca gcattctcgcg tgccgaggcc	60
gaggagcacc tgaagctggc gggcatggcg gacgggctct tcctgctgcg ccagtgcctg	120
cgctcgctgg gcggtatgt gctgtcgctc gtgcacgatg tgogcttcca ccaactttccc	180
atcgagcgcc agctcaacgg caoctacgcc attgccggcg gcaaagcgca ctgtggaccg	240
gcagagctct gcgagttcta ctgcgcgcac ccgacgggc tgccctgcaa cctgcgcaag	300
ccgtgcaacc ggccgtcggg cctcgagccg cagccggggg tcttcgactg cctgcgagac	360
gccatggtgc gtgactacgt gcgccagacg tggaagctgg agggcgaggc cctggagcag	420
gcoatcatca gccaggcccc gcaagtggag aagctcattg ctacgacggc ccacgagcgg	480
atgcctcgtg accacagcag cctgacgcgt gaggaggccg agcgcaaact ttactctggg	540
gcgcagaccg acggcaagtt cctgctgagg ccgcggaagg agcagggcac atacgccctg	600
tcctcatct atgggaagac ggtgtaccac tacctcatca gccaagacaa ggcgggcaag	660
tactgcattc ccgagggcac caagtttgac acgctctggc agctggtgga gtatctgaag	720
ctgaaggcgg acgggctcat ctactgctg aaggaggcct gcccacacag cagtgccagc	780
aacgcctcag gggctgctgc tccacactc ccagcccacc catccacgtt gactcatcct	840
cagagacgaa tcgacaccct caactcagat ggatacacc ctgagccagc acgcataacg	900

ES 2 758 227 T3

```
tccccagaca aaccgcggcc gatgcccattg gacacgagcg tgtatgagag cccctacagc      960
gaccagagag agctcaagga caagaagctc ttctgaagc gcgataacct cctcatagct      1020
gacattgaac ttggctgcgg caactttggc tcagtgcgcc agggcggtga ccgcatgcgc      1080
aagaagcaga tcgacgtggc catcaaggtg ctgaagcagg gcacggagaa ggcagacacg      1140
gaagagatga tgcgcgaggc gcagatcatg caccagctgg acaacccta catcgtgcgg      1200
ctcattggcg tctgccaggc cgaggccctc atgctggtca tggagatggc tgggggcggg      1260
ccgctgcaca agttcctggt cggcaagagg gaggagatcc ctgtgagcaa tgtggccgag      1320
ctgctgcacc aggtgtccat ggggatgaag tacctggagg agaagaactt tgtgcaccgt      1380
gacctggcgg cccgcaacgt cctgctggtt aaccggcact acgccaagat cagcgacttt      1440
ggcctctcca aagcactggg tgccgacgac agctactaca ctgcccgctc agcaggggaag      1500
tggccgctca agtggtagcg acccgaatgc atcaacttcc gcaagttctc cagccgcagc      1560
gatgtctgga gctatggggt caccatgtgg gaggccttgt cctacggcca gaagccctac      1620
aagaagatga aagggccgga ggtcatggcc ttcatcgagc agggcaagcg gatggagtgc      1680
ccaccagagt gtccaccgga actgtacgca ctcatgagtg actgctggat ctacaagtgg      1740
gaggatcgcc ccgacttcct gaccgtggag cagcgcagtc gagcctgtta ctacagcctg      1800
gccagcaagg tggaagggcc ccaggcgagc acacagaagg ctgaggctgc ctgtgcc      1857
```

<210> 36
 <211> 619
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polipéptido sintético

<400> 36

```
Met Pro Asp Pro Ala Ala His Leu Pro Phe Phe Tyr Gly Ser Ile Ser
1           5           10           15

Arg Ala Glu Ala Glu Glu His Leu Lys Leu Ala Gly Met Ala Asp Gly
          20           25           30

Leu Phe Leu Leu Arg Gln Cys Leu Arg Ser Leu Gly Gly Tyr Val Leu
          35           40           45

Ser Leu Val His Asp Val Arg Phe His His Phe Pro Ile Glu Arg Gln
          50           55           60

Leu Asn Gly Thr Tyr Ala Ile Ala Gly Gly Lys Ala His Cys Gly Pro
          65           70           75           80
```

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

Leu Leu Ile Ala Asp Ile Glu Leu Gly Cys Gly Asn Phe Gly Ser Val
 340 345 350

Arg Gln Gly Val Tyr Arg Met Arg Lys Lys Gln Ile Asp Val Ala Ile
 355 360 365

Lys Val Leu Lys Gln Gly Thr Glu Lys Ala Asp Thr Glu Glu Met Met
 370 375 380

Arg Glu Ala Gln Ile Met His Gln Leu Asp Asn Pro Tyr Ile Val Arg
 385 390 395 400

Leu Ile Gly Val Cys Gln Ala Glu Ala Leu Met Leu Val Met Glu Met
 405 410 415

Ala Gly Gly Gly Pro Leu His Lys Phe Leu Val Gly Lys Arg Glu Glu
 420 425 430

Ile Pro Val Ser Asn Val Ala Glu Leu Leu His Gln Val Ser Met Gly
 435 440 445

Met Lys Tyr Leu Glu Glu Lys Asn Phe Val His Arg Asp Leu Ala Ala
 450 455 460

Arg Asn Val Leu Leu Val Asn Arg His Tyr Ala Lys Ile Ser Asp Phe
 465 470 475 480

Gly Leu Ser Lys Ala Leu Gly Ala Asp Asp Ser Tyr Tyr Thr Ala Arg
 485 490 495

Ser Ala Gly Lys Trp Pro Leu Lys Trp Tyr Ala Pro Glu Cys Ile Asn
 500 505 510

Phe Arg Lys Phe Ser Ser Arg Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr
 515 520 525

Met Trp Glu Ala Leu Ser Tyr Gly Gln Lys Pro Tyr Lys Lys Met Lys
 530 535 540

Gly Pro Glu Val Met Ala Phe Ile Glu Gln Gly Lys Arg Met Glu Cys
 545 550 555 560

Pro Pro Glu Cys Pro Pro Glu Leu Tyr Ala Leu Met Ser Asp Cys Trp
 565 570 575

Ile Tyr Lys Trp Glu Asp Arg Pro Asp Phe Leu Thr Val Glu Gln Arg

ES 2 758 227 T3

580

585

590

Met Arg Ala Cys Tyr Tyr Ser Leu Ala Ser Lys Val Glu Gly Pro Pro
595 600 605

Gly Ser Thr Gln Lys Ala Glu Ala Ala Cys Ala
610 615

- 5 <210> 37
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> polipéptido sintético
- 15 <220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1)..(5)
<223> los aminoácidos en esta región pueden repetirse n veces, donde n es un número entero de al menos uno
- <400> 37
- Gly Ser Gly Gly Ser
1 5
- 20 <210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 25 <220>
<223> polipéptido sintético
- 30 <220>
<221> REPETICIÓN
<222> (1)..(4)
<223> los aminoácidos en esta región pueden repetirse n veces, donde n es un número entero de al menos uno
- <400> 38
- Gly Gly Gly Ser
1
- 35 <210> 39
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 40 <220>
<223> polipéptido sintético
- 45 <400> 39
- Gly Gly Ser Gly
1
- 50 <210> 40
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

	<220>	
	<223> polipéptido sintético	
5	<400> 40	
		Gly Gly Ser Gly Gly 1 5
10	<210> 41 <211> 5 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
15	<220> <223> polipéptido sintético	
	<400> 41	
		Gly Ser Gly Ser Gly 1 5
20	<210> 42 <211> 5 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
25	<220> <223> polipéptido sintético	
	<400> 42	
30		Gly Ser Gly Gly Gly 1 5
35	<210> 43 <211> 5 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
40	<220> <223> polipéptido sintético	
	<400> 43	
		Gly Gly Gly Ser Gly 1 5
45	<210> 44 <211> 5 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> polipéptido sintético	
	<400> 44	

Gly Ser Ser Ser Gly
1 5

5 <210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> polipéptido sintético
<400> 45

Asp Lys Thr His Thr
1 5

15 <210> 46
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> polipéptido sintético
<400> 46

Cys Pro Pro Cys
1

25 <210> 47
<211> 15
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético
35 <400> 47

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
1 5 10 15

40 <210> 48
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> polipéptido sintético
<400> 48

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr
1 5 10

50 <210> 49
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

5 <400> 49

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
1 5 10

10 <210> 50
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> polipéptido sintético

<400> 50

Lys Cys Cys Val Asp Cys Pro
1 5

20 <210> 51
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> polipéptido sintético

<400> 51

30 <210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> polipéptido sintético

<400> 52

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

45 <210> 53
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> polipéptido sintético

<400> 53

		Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro					
		1				5					10							
5	<210> 54																	
	<211> 17																	
	<212> PRT																	
	<213> Secuencia artificial																	
10	<220>																	
	<223> polipéptido sintético																	
	<400> 54																	
		Glu	Leu	Lys	Thr	Pro	Leu	Gly	Asp	Thr	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Arg	Cys	
		1				5					10					15		
		Pro																
15	<210> 55																	
	<211> 12																	
	<212> PRT																	
	<213> Secuencia artificial																	
20	<220>																	
	<223> polipéptido sintético																	
	<400> 55																	
25		Ser	Pro	Asn	Met	Val	Pro	His	Ala	His	His	Ala	Gln					
		1				5					10							
30	<210> 56																	
	<211> 45																	
	<212> PRT																	
	<213> Secuencia artificial																	
35	<220>																	
	<223> polipéptido sintético																	
	<400> 56																	
		Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	
		1				5					10					15		
		Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	
					20					25					30			
		Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp				
				35					40					45				
40	<210> 57																	
	<211> 23																	
	<212> PRT																	
	<213> Secuencia artificial																	
	<220>																	

<223> polipéptido sintético

<400> 57

Leu Gly Leu Leu Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Val Ala Ile His Leu Cys Cys
20

5

<210> 58

<211> 25

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

15 <400> 58

Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly
1 5 10 15

Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys
20 25

20

<210> 59

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> polipéptido sintético

<400> 59

Leu Cys Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu
1 5 10 15

Thr Ala Leu Phe Leu Arg Val
20

30

<210> 60

<211> 26

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 60

40

ES 2 758 227 T3

Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu
1 5 10 15

Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
20 25

<210> 61
<211> 26
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 61

Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro
1 5 10 15

Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
20 25

<210> 62
<211> 24
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 62

Ala Leu Pro Ala Ala Leu Ala Val Ile Ser Phe Leu Leu Gly Leu Gly
1 5 10 15

Leu Gly Val Ala Cys Val Leu Ala
20

<210> 63
<211> 44
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 63

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met
1 5 10 15

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro
20 25 30

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 64
 <211> 35
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> polipéptido sintético
 10 <400> 64

 Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
 1 5 10 15

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

 Val Thr Leu
 35

 15 <210> 65
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 20 <223> polipéptido sintético

 <400> 65

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

 Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 20 25 30

 Thr Leu Ala Lys Ile
 35
 25
 <210> 66
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> polipéptido sintético

 <400> 66
 35
 Cys Cys Leu Arg Arg His Gln Gly Lys Gln Asn Glu Leu Ser Asp Thr
 1 5 10 15

ES 2 758 227 T3

Ala Gly Arg Glu Ile Asn Leu Val Asp Ala His Leu Lys Ser Glu Gln
20 25 30

Thr Glu Ala Ser Thr Arg Gln Asn Ser Gln Val Leu Leu Ser Glu Thr
35 40 45

Gly Ile Tyr Asp Asn Asp Pro Asp Leu Cys Phe Arg Met Gln Glu Gly
50 55 60

Ser Glu Val Tyr Ser Asn Pro Cys Leu Glu Glu Asn Lys Pro Gly Ile
65 70 75 80

Val Tyr Ala Ser Leu Asn His Ser Val Ile Gly Pro Asn Ser Arg Leu
85 90 95

Ala Arg Asn Val Lys Glu Ala Pro Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Cys Val
100 105 110

Arg Ser

<210> 67
<211> 49
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 67

His Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu
1 5 10 15

Pro Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser
20 25 30

Thr Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser
35 40 45

Pro

<210> 68
<211> 187
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 68

ES 2 758 227 T3

Arg Arg Ala Cys Arg Lys Arg Ile Arg Gln Lys Leu His Leu Cys Tyr
1 5 10 15

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

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

Val Ala Glu Glu Arg Gly Leu Met Ser Gln Pro Leu Met Glu Thr Cys
50 55 60

His Ser Val Gly Ala Ala Tyr Leu Glu Ser Leu Pro Leu Gln Asp Ala
65 70 75 80

Ser Pro Ala Gly Gly Pro Ser Ser Pro Arg Asp Leu Pro Glu Pro Arg
85 90 95

Val Ser Thr Glu His Thr Asn Asn Lys Ile Glu Lys Ile Tyr Ile Met
100 105 110

Lys Ala Asp Thr Val Ile Val Gly Thr Val Lys Ala Glu Leu Pro Glu
115 120 125

Gly Arg Gly Leu Ala Gly Pro Ala Glu Pro Glu Leu Glu Glu Glu Leu
130 135 140

Glu Ala Asp His Thr Pro His Tyr Pro Glu Gln Glu Thr Glu Pro Pro
145 150 155 160

Leu Gly Ser Cys Ser Asp Val Met Leu Ser Val Glu Glu Glu Gly Lys
165 170 175

Glu Asp Pro Leu Pro Thr Ala Ala Ser Gly Lys
180 185

<210> 69
<211> 54
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 69

His Ile Trp Gln Leu Arg Ser Gln Cys Met Trp Pro Arg Glu Thr Gln
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Glu Glu Arg Gly Glu Arg Ser Ala Glu Glu Lys Gly Arg
35 40 45

Leu Gly Asp Leu Trp Val
50

<210> 70
<211> 60
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético
<400> 70

Cys Val Lys Arg Arg Lys Pro Arg Gly Asp Val Val Lys Val Ile Val
1 5 10 15

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

Glu Ala Leu Gln Ala Pro Pro Asp Val Thr Thr Val Ala Val Glu Glu
35 40 45

Thr Ile Pro Ser Phe Thr Gly Arg Ser Pro Asn His
50 55 60

<210> 71
<211> 292
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético
<400> 71

Leu Glu Glu Ser Val Ala Leu Arg Ile Ile Thr Glu Gly Ala Ser Ile
1 5 10 15

Leu Arg Gln Glu Lys Asn Leu Leu Asp Ile Asp Ala Pro Val Thr Val
20 25 30

Cys Gly Asp Ile His Gly Gln Phe Phe Asp Leu Met Lys Leu Phe Glu
35 40 45

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

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

<210> 72
 <211> 165

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 72

```

Met Val Asn Pro Thr Val Phe Phe Asp Ile Ala Val Asp Gly Glu Pro
 1              5              10              15

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

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

Lys Gly Ser Cys Phe His Arg Ile Ile Pro Gly Phe Met Cys Gln Gly
 50              55              60

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

Glu Lys Phe Glu Asp Glu Asn Phe Ile Leu Lys His Thr Gly Pro Gly
      85              90              95

Ile Leu Ser Met Ala Asn Ala Gly Pro Asn Thr Asn Gly Ser Gln Phe
      100              105              110

Phe Ile Cys Thr Ala Lys Thr Glu Trp Leu Asp Gly Lys His Val Val
      115              120              125

Phe Gly Lys Val Lys Glu Gly Met Asn Ile Val Glu Ala Met Glu Arg
      130              135              140

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

Cys Gly Gln Leu Glu
      165

```

<210> 73
<211> 804
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 73

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

Gln Trp Asn Asp Gly Phe Gln Glu Asn Ile Tyr Cys Phe Thr Asn Asn
260 265 270

Ile Pro Gln Arg Asp Gly Gly Thr His Leu Ala Gly Phe Arg Ala Ala
275 280 285

Met Thr Arg Thr Leu Asn Ala Tyr Met Asp Lys Glu Gly Tyr Ser Lys
290 295 300

Lys Ala Lys Val Ser Ala Thr Gly Asp Asp Ala Arg Glu Gly Leu Ile
305 310 315 320

Ala Val Val Ser Val Lys Val Pro Asp Pro Lys Phe Ser Ser Gln Thr
325 330 335

Lys Asp Lys Leu Val Ser Ser Glu Val Lys Ser Ala Val Glu Gln Gln
340 345 350

Met Asn Glu Leu Leu Ala Glu Tyr Leu Leu Glu Asn Pro Thr Asp Ala
355 360 365

Lys Ile Val Val Gly Lys Ile Ile Asp Ala Ala Arg Ala Arg Glu Ala
370 375 380

Ala Arg Arg Ala Arg Glu Met Thr Arg Arg Lys Gly Ala Leu Asp Leu
385 390 395 400

Ala Gly Leu Pro Gly Lys Leu Ala Asp Cys Gln Glu Arg Asp Pro Ala
405 410 415

Leu Ser Glu Leu Tyr Leu Val Glu Gly Asp Ser Ala Gly Gly Ser Ala
420 425 430

Lys Gln Gly Arg Asn Arg Lys Asn Gln Ala Ile Leu Pro Leu Lys Gly
435 440 445

Lys Ile Leu Asn Val Glu Lys Ala Arg Phe Asp Lys Met Leu Ser Ser
450 455 460

Gln Glu Val Ala Thr Leu Ile Thr Ala Leu Gly Cys Gly Ile Gly Arg
465 470 475 480

Asp Glu Tyr Asn Pro Asp Lys Leu Arg Tyr His Ser Ile Ile Ile Met
485 490 495

Thr Asp Ala Asp Val Asp Gly Ser His Ile Arg Thr Leu Leu Leu Thr
500 505 510

Phe Phe Tyr Arg Gln Met Pro Glu Ile Val Glu Arg Gly His Val Tyr
 515 520 525
 Ile Ala Gln Pro Pro Leu Tyr Lys Val Lys Lys Gly Lys Gln Glu Gln
 530 535 540
 Tyr Ile Lys Asp Asp Glu Ala Met Asp Gln Tyr Gln Ile Ser Ile Ala
 545 550 555 560
 Leu Asp Gly Ala Thr Leu His Thr Asn Ala Ser Ala Pro Ala Leu Ala
 565 570 575
 Gly Glu Ala Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Tyr Asn Ala Thr Gln Lys
 580 585 590
 Met Ile Asn Arg Met Glu Arg Arg Tyr Pro Lys Ala Met Leu Lys Glu
 595 600 605
 Leu Ile Tyr Gln Pro Thr Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ser Asp Glu Gln
 610 615 620
 Thr Val Thr Arg Trp Val Asn Ala Leu Val Ser Glu Leu Asn Asp Lys
 625 630 635 640
 Glu Gln His Gly Ser Gln Trp Lys Phe Asp Val His Thr Asn Ala Glu
 645 650 655
 Gln Asn Leu Phe Glu Pro Ile Val Arg Val Arg Thr His Gly Val Asp
 660 665 670
 Thr Asp Tyr Pro Leu Asp His Glu Phe Ile Thr Gly Gly Glu Tyr Arg
 675 680 685
 Arg Ile Cys Thr Leu Gly Glu Lys Leu Arg Gly Leu Leu Glu Glu Asp
 690 695 700
 Ala Phe Ile Glu Arg Gly Glu Arg Arg Gln Pro Val Ala Ser Phe Glu
 705 710 715 720
 Gln Ala Leu Asp Trp Leu Val Lys Glu Ser Arg Arg Gly Leu Ser Ile
 725 730 735
 Gln Arg Tyr Lys Gly Leu Gly Glu Met Asn Pro Glu Gln Leu Trp Glu
 740 745 750
 Thr Thr Met Asp Pro Glu Ser Arg Arg Met Leu Arg Val Thr Val Lys

ES 2 758 227 T3

755

760

765

Asp Ala Ile Ala Ala Asp Gln Leu Phe Thr Thr Leu Met Gly Asp Ala
770 775 780

Val Glu Pro Arg Arg Ala Phe Ile Glu Glu Asn Ala Leu Lys Ala Ala
785 790 795 800

Asn Ile Asp Ile

<210> 74

<211> 187

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 74

Met Val Gly Ser Leu Asn Cys Ile Val Ala Val Ser Gln Asn Met Gly
1 5 10 15

Ile Gly Lys Asn Gly Asp Leu Pro Trp Pro Pro Leu Arg Asn Glu Phe
20 25 30

Arg Tyr Phe Gln Arg Met Thr Thr Thr Ser Ser Val Glu Gly Lys Gln
35 40 45

Asn Leu Val Ile Met Gly Lys Lys Thr Trp Phe Ser Ile Pro Glu Lys
50 55 60

Asn Arg Pro Leu Lys Gly Arg Ile Asn Leu Val Leu Ser Arg Glu Leu
65 70 75 80

Lys Glu Pro Pro Gln Gly Ala His Phe Leu Ser Arg Ser Leu Asp Asp
85 90 95

Ala Leu Lys Leu Thr Glu Gln Pro Glu Leu Ala Asn Lys Val Asp Met
100 105 110

Val Trp Ile Val Gly Gly Ser Ser Val Tyr Lys Glu Ala Met Asn His
115 120 125

Pro Gly His Leu Lys Leu Phe Val Thr Arg Ile Met Gln Asp Phe Glu
130 135 140

Ser Asp Thr Phe Phe Pro Glu Ile Asp Leu Glu Lys Tyr Lys Leu Leu
145 150 155 160

ES 2 758 227 T3

Pro Glu Tyr Pro Gly Val Leu Ser Asp Val Gln Glu Glu Lys Gly Ile
165 170 175

Lys Tyr Lys Phe Glu Val Tyr Glu Lys Asn Asp
180 185

<210> 75
<211> 111
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 75

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

Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly
20 25 30

Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys
35 40 45

Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu
50 55 60

Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro
85 90 95

Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu
100 105 110

<210> 76
<211> 183
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 76

Met Asn Gly Asp Glu Thr Lys Lys Val Glu Ser Glu Tyr Ile Lys Lys
1 5 10 15

His His Arg His Glu Leu Val Glu Ser Gln Cys Ser Ser Thr Leu Val

ES 2 758 227 T3

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

<210> 77
 <211> 161
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polipéptido sintético

<400> 77

Met Glu Thr Ser Gln Lys Tyr His Thr Cys Gly Ser Thr Leu Val Gln
 1 5 10 15

Thr Ile Asp Ala Pro Leu Ser Leu Val Trp Ser Ile Leu Arg Arg Phe
 20 25 30

Asp Asn Pro Gln Ala Tyr Lys Gln Phe Val Lys Thr Cys Asn Leu Ser
 35 40 45

Ser Gly Asp Gly Gly Glu Gly Ser Val Arg Glu Val Thr Val Val Ser
 50 55 60

Gly Leu Pro Ala Glu Phe Ser Arg Glu Arg Leu Asp Glu Leu Asp Asp
 65 70 75 80

Glu Ser His Val Met Met Ile Ser Ile Ile Gly Gly Asp His Arg Leu
 85 90 95

Val Asn Tyr Arg Ser Lys Thr Met Ala Phe Val Ala Ala Asp Thr Glu
 100 105 110

Glu Lys Thr Val Val Val Glu Ser Tyr Val Val Asp Val Pro Glu Gly
 115 120 125

Asn Ser Glu Glu Glu Thr Thr Ser Phe Ala Asp Thr Ile Val Gly Phe
 130 135 140

Asn Leu Lys Ser Leu Ala Lys Leu Ser Glu Arg Val Ala His Leu Lys
 145 150 155 160

Leu

- 5 <210> 78
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> polipéptido sintético
- <400> 78

```

Met Lys Thr Ser Gln Glu Gln His Val Cys Gly Ser Thr Val Val Gln
1           5           10           15

Thr Ile Asn Ala Pro Leu Pro Leu Val Trp Ser Ile Leu Arg Arg Phe
           20           25           30

Asp Asn Pro Lys Thr Phe Lys His Phe Val Lys Thr Cys Lys Leu Arg
           35           40           45

Ser Gly Asp Gly Gly Glu Gly Ser Val Arg Glu Val Thr Val Val Ser
           50           55           60

Asp Leu Pro Ala Ser Phe Ser Leu Glu Arg Leu Asp Glu Leu Asp Asp
65           70           75           80

Glu Ser His Val Met Val Ile Ser Ile Ile Gly Gly Asp His Arg Leu
           85           90           95

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

Lys Thr Val Val Val Glu Ser Tyr Val Val Asp Val Pro Glu Gly Asn
           115          120          125

Thr Glu Glu Glu Thr Thr Leu Phe Ala Asp Thr Ile Val Gly Cys Asn
           130          135          140

Leu Arg Ser Leu Ala Lys Leu Ser Glu Lys Met Met Glu Leu Thr
145          150          155

```

- 5 <210> 79
 <211> 164
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> polipéptido sintético
- <400> 79

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

- 5 <210> 80
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> polipéptido sintético
- <400> 80

ES 2 758 227 T3

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

<210> 81
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 81

5

```

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

Thr Leu Glu Pro Val Ile Lys Thr Tyr His Gln Phe Glu Pro Asp Pro
                20           25           30

Thr Thr Cys Thr Ser Leu Ile Thr Gln Arg Ile His Ala Pro Ala Ser
          35           40           45

Val Val Trp Pro Leu Ile Arg Arg Phe Asp Asn Pro Glu Arg Tyr Lys
50           55           60

His Phe Val Lys Arg Cys Arg Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Val Gly
65           70           75           80

Ser Val Arg Glu Val Thr Val Ile Ser Gly Leu Pro Ala Ser Thr Ser
          85           90           95

Thr Glu Arg Leu Glu Phe Val Asp Asp Asp His Arg Val Leu Ser Phe
          100           105           110

Arg Val Val Gly Gly Glu His Arg Leu Lys Asn Tyr Lys Ser Val Thr
          115           120           125

Ser Val Asn Glu Phe Leu Asn Gln Asp Ser Gly Lys Val Tyr Thr Val
          130           135           140

Val Leu Glu Ser Tyr Thr Val Asp Ile Pro Glu Gly Asn Thr Glu Glu
145           150           155           160

Asp Thr Lys Met Phe Val Asp Thr Val Val Lys Leu Asn Leu Gln Lys
          165           170           175

Leu Gly Val Ala Ala Thr Ser Ala Pro Met His Asp Asp Glu
          180           185           190

```

<210> 82

<211> 209

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 82

10

15

Met Asn Leu Ala Pro Ile His Asp Pro Ser Ser Ser Ser Thr Thr Thr
1 5 10 15

Thr Ser Ser Ser Thr Pro Tyr Gly Leu Thr Lys Asp Glu Phe Ser Thr
20 25 30

Leu Asp Ser Ile Ile Arg Thr His His Thr Phe Pro Arg Ser Pro Asn
35 40 45

Thr Cys Thr Ser Leu Ile Ala His Arg Val Asp Ala Pro Ala His Ala
50 55 60

Ile Trp Arg Phe Val Arg Asp Phe Ala Asn Pro Asn Lys Tyr Lys His
65 70 75 80

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

Ile Lys Val Gly Thr Ile Arg Glu Val Ser Val Val Ser Gly Leu Pro
100 105 110

Ala Ser Thr Ser Val Glu Ile Leu Glu Val Leu Asp Glu Glu Lys Arg
115 120 125

Ile Leu Ser Phe Arg Val Leu Gly Gly Glu His Arg Leu Asn Asn Tyr
130 135 140

Arg Ser Val Thr Ser Val Asn Glu Phe Val Val Leu Glu Lys Asp Lys
145 150 155 160

Lys Lys Arg Val Tyr Ser Val Val Leu Glu Ser Tyr Ile Val Asp Ile
165 170 175

Pro Gln Gly Asn Thr Glu Glu Asp Thr Arg Met Phe Val Asp Thr Val
180 185 190

Val Lys Ser Asn Leu Gln Asn Leu Ala Val Ile Ser Thr Ala Ser Pro
195 200 205

Thr

- 5 <210> 83
<211> 207
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> polipéptido sintético
- <400> 83

ES 2 758 227 T3

```

Met Leu Ala Val His Arg Pro Ser Ser Ala Val Ser Asp Gly Asp Ser
1           5           10           15

Val Gln Ile Pro Met Met Ile Ala Ser Phe Gln Lys Arg Phe Pro Ser
          20           25           30

Leu Ser Arg Asp Ser Thr Ala Ala Arg Phe His Thr His Glu Val Gly
          35           40           45

Pro Asn Gln Cys Cys Ser Ala Val Ile Gln Glu Ile Ser Ala Pro Ile
          50           55           60

Ser Thr Val Trp Ser Val Val Arg Arg Phe Asp Asn Pro Gln Ala Tyr
65           70           75           80

Lys His Phe Leu Lys Ser Cys Ser Val Ile Gly Gly Asp Gly Asp Asn
          85           90           95

Val Gly Ser Leu Arg Gln Val His Val Val Ser Gly Leu Pro Ala Ala
          100          105          110

Ser Ser Thr Glu Arg Leu Asp Ile Leu Asp Asp Glu Arg His Val Ile
          115          120          125

Ser Phe Ser Val Val Gly Gly Asp His Arg Leu Ser Asn Tyr Arg Ser
          130          135          140

Val Thr Thr Leu His Pro Ser Pro Ile Ser Gly Thr Val Val Val Glu
145          150          155          160

Ser Tyr Val Val Asp Val Pro Pro Gly Asn Thr Lys Glu Glu Thr Cys
          165          170          175

Asp Phe Val Asp Val Ile Val Arg Cys Asn Leu Gln Ser Leu Ala Lys
          180          185          190

Ile Ala Glu Asn Thr Ala Ala Glu Ser Lys Lys Lys Met Ser Leu
          195          200          205

```

5 <210> 84
 <211> 203
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> polipéptido sintético

<400> 84

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

Phe His Thr Leu Gln Pro His Asp Gln Thr Asp Gly Pro Ile Lys Arg
20 25 30

Val	Cys	Leu	Thr	Arg	Gly	Met	His	Val	Pro	Glu	His	Val	Ala	Met	His
		35				40						45			

His Thr His Asp Val Gly Pro Asp Gln Cys Cys Ser Ser Val Val Gln
50 55 60

Met Ile His Ala Pro Pro Glu Ser Val Trp Ala Leu Val Arg Arg Phe
65 70 75 80

Asp	Asn	Pro	Lys	Val	Tyr	Lys	Asn	Phe	Ile	Arg	Gln	Cys	Arg	Ile	Val
				85					90					95	

Gln	Gly	Asp	Gly	Leu	His	Val	Gly	Asp	Leu	Arg	Glu	Val	Met	Val	Val
			100					105					110		

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

Glu Glu Arg His Val Ile Ser Phe Ser Val Val Gly Gly Asp His Arg
130 135 140

Leu Lys Asn Tyr Arg Ser Val Thr Thr Leu His Ala Ser Asp Asp Glu
145 150 155 160

Gly Thr Val Val Val Glu Ser Tyr Ile Val Asp Val Pro Pro Gly Asn

165

Thr Glu Glu Glu Thr Leu Ser Phe Val Asp Thr Ile Val Arg Cys Asn
180 185 190

Leu Gln Ser Leu Ala Arg Ser Thr Asn Arg Gln
195 200

<210> 85
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 85

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

5 <210> 86
 <211> 211
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> polipéptido sintético

<400> 86

```

Met Glu Met Ile Gly Gly Asp Asp Thr Asp Thr Glu Met Tyr Gly Ala
1      5      10      15

Leu Val Thr Ala Gln Ser Leu Arg Leu Arg His Leu His His Cys Arg
      20      25      30

Glu Asn Gln Cys Thr Ser Val Leu Val Lys Tyr Ile Gln Ala Pro Val
      35      40      45

His Leu Val Trp Ser Leu Val Arg Arg Phe Asp Gln Pro Gln Lys Tyr
      50      55      60

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

Cys Leu Arg Glu Val Asn Val Lys Ser Gly Leu Pro Ala Thr Thr Ser
      85      90      95

Thr Glu Arg Leu Glu Gln Leu Asp Asp Glu Glu His Ile Leu Gly Ile
      100      105      110

Asn Ile Ile Gly Gly Asp His Arg Leu Lys Asn Tyr Ser Ser Ile Leu
      115      120      125

Thr Val His Pro Glu Met Ile Asp Gly Arg Ser Gly Thr Met Val Met
      130      135      140

Glu Ser Phe Val Val Asp Val Pro Gln Gly Asn Thr Lys Asp Asp Thr
145      150      155      160

Cys Tyr Phe Val Glu Ser Leu Ile Lys Cys Asn Leu Lys Ser Leu Ala
      165      170      175

Cys Val Ser Glu Arg Leu Ala Ala Gln Asp Ile Thr Asn Ser Ile Ala
      180      185      190

Thr Phe Cys Asn Ala Ser Asn Gly Tyr Arg Glu Lys Asn His Thr Glu
195      200      205

Thr Asn Leu
210

```

<210> 87

<211> 188

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

5 <400> 87

```

Met Glu Ala Asn Gly Ile Glu Asn Leu Thr Asn Pro Asn Gln Glu Arg
 1           5           10           15

Glu Phe Ile Arg Arg His His Lys His Glu Leu Val Asp Asn Gln Cys
 20           25           30

Ser Ser Thr Leu Val Lys His Ile Asn Ala Pro Val His Ile Val Trp
 35           40           45

Ser Leu Val Arg Arg Phe Asp Gln Pro Gln Lys Tyr Lys Pro Phe Ile
 50           55           60

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

Val Asp Val Lys Ser Gly Leu Pro Ala Thr Arg Ser Thr Glu Arg Leu
 85           90           95

Glu Leu Leu Asp Asp Asn Glu His Ile Leu Ser Ile Arg Ile Val Gly
 100          105          110

Gly Asp His Arg Leu Lys Asn Tyr Ser Ser Ile Ile Ser Leu His Pro
 115          120          125

Glu Thr Ile Glu Gly Arg Ile Gly Thr Leu Val Ile Glu Ser Phe Val
 130          135          140

Val Asp Val Pro Glu Gly Asn Thr Lys Asp Glu Thr Cys Tyr Phe Val
 145          150          155          160

Glu Ala Leu Ile Lys Cys Asn Leu Lys Ser Leu Ala Asp Ile Ser Glu
 165          170          175

Arg Leu Ala Val Gln Asp Thr Thr Glu Ser Arg Val
 180          185

```

10 <210> 88
<211> 187
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> polipéptido sintético
<400> 88

Met Met Asp Gly Val Glu Gly Gly Thr Ala Met Tyr Gly Gly Leu Glu
1 5 10 15

Thr Val Gln Tyr Val Arg Thr His His Gln His Leu Cys Arg Glu Asn
20 25 30

Gln Cys Thr Ser Ala Leu Val Lys His Ile Lys Ala Pro Leu His Leu
35 40 45

Val Trp Ser Leu Val Arg Arg Phe Asp Gln Pro Gln Lys Tyr Lys Pro
50 55 60

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

Arg Glu Val Asn Val Lys Ser Gly Leu Pro Ala Thr Thr Ser Thr Glu
85 90 95

Arg Leu Glu Leu Leu Asp Asp Glu Glu His Ile Leu Gly Ile Lys Ile
100 105 110

Ile Gly Gly Asp His Arg Leu Lys Asn Tyr Ser Ser Ile Leu Thr Val
115 120 125

His Pro Glu Ile Ile Glu Gly Arg Ala Gly Thr Met Val Ile Glu Ser
130 135 140

Phe Val Val Asp Val Pro Gln Gly Asn Thr Lys Asp Glu Thr Cys Tyr
145 150 155 160

Phe Val Glu Ala Leu Ile Arg Cys Asn Leu Lys Ser Leu Ala Asp Val
165 170 175

Ser Glu Arg Leu Ala Ser Gln Asp Ile Thr Gln
180 185

- 5 <210> 89
<211> 191
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 10 <220>
<223> polipéptido sintético
- <400> 89

Met	Pro	Ser	Glu	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Arg	Ser	Glu	Leu	Lys	Asn	Ser
1				5					10					15	

Ile Ala Glu Phe His Thr Tyr Gln Leu Asp Pro Gly Ser Cys Ser Ser
20 25 30

Leu His Ala Gln Arg Ile His Ala Pro Pro Glu Leu Val Trp Ser Ile
35 40 45

Val	Arg	Arg	Phe	Asp	Lys	Pro	Gln	Thr	Tyr	Lys	His	Phe	Ile	Lys	Ser
50						55					60				

Cys Ser Val Glu Gln Asn Phe Glu Met Arg Val Gly Cys Thr Arg Asp
65 70 75 80

Val Ile Val Ile Ser Gly Leu Pro Ala Asn Thr Ser Thr Glu Arg Leu
85 90 95

Asp Ile Leu Asp Asp Glu Arg Arg Val Thr Gly Phe Ser Ile Ile Gly
100 105 110

Gly Glu His Arg Leu Thr Asn Tyr Lys Ser Val Thr Thr Val His Arg
115 120 125

Phe	Glu	Lys	Glu	Asn	Arg	Ile	Trp	Thr	Val	Val	Leu	Glu	Ser	Tyr	Val
130						135					140				

Val	Asp	Met	Pro	Glu	Gly	Asn	Ser	Glu	Asp	Asp	Thr	Arg	Met	Phe	Ala
145					150					155					160

Asp Thr Val Val Lys Leu Asn Leu Gln Lys Leu Ala Thr Val Ala Glu
165 170 175

Ala Met Ala Arg Asn Ser Gly Asp Gly Ser Gly Ser Gln Val Thr
180 185 190

<210> 90
<211> 434
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 90

ES 2 758 227 T3

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

```

Asp Gly Asp Thr Trp Leu Glu Lys Trp Lys Lys Ala Leu Phe Asn Ser
210                      215                      220

Phe Leu Arg Val Asp Ser Glu Ile Glu Ser Val Ala Pro Glu Thr Val
225                      230                      235                      240

Gly Ser Thr Ser Val Val Ala Val Val Phe Pro Ser His Ile Phe Val
                      245                      250                      255

Ala Asn Cys Gly Asp Ser Arg Ala Val Leu Cys Arg Gly Lys Thr Ala
                      260                      265                      270

Leu Pro Leu Ser Val Asp His Lys Pro Asp Arg Glu Asp Glu Ala Ala
275                      280                      285

Arg Ile Glu Ala Ala Gly Gly Lys Val Ile Gln Trp Asn Gly Ala Arg
290                      295                      300

Val Phe Gly Val Leu Ala Met Ser Arg Ser Ile Gly Asp Arg Tyr Leu
305                      310                      315                      320

Lys Pro Ser Ile Ile Pro Asp Pro Glu Val Thr Ala Val Lys Arg Val
                      325                      330                      335

Lys Glu Asp Asp Cys Leu Ile Leu Ala Ser Asp Gly Val Trp Asp Val
                      340                      345                      350

Met Thr Asp Glu Glu Ala Cys Glu Met Ala Arg Lys Arg Ile Leu Leu
355                      360                      365

Trp His Lys Lys Asn Ala Val Ala Gly Asp Ala Ser Leu Leu Ala Asp
370                      375                      380

Glu Arg Arg Lys Glu Gly Lys Asp Pro Ala Ala Met Ser Ala Ala Glu
385                      390                      395                      400

Tyr Leu Ser Lys Leu Ala Ile Gln Arg Gly Ser Lys Asp Asn Ile Ser
                      405                      410                      415

Val Val Val Val Asp Leu Lys Pro Arg Arg Lys Leu Lys Ser Lys Pro
420                      425                      430

Leu Asn

```

<210> 91
 <211> 423
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

5

<400> 91

Met Asp Glu Val Ser Pro Ala Val Ala Val Pro Phe Arg Pro Phe Thr
 1 5 10 15

Asp Pro His Ala Gly Leu Arg Gly Tyr Cys Asn Gly Glu Ser Arg Val
 20 25 30

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

Ser Phe Glu Ile Asn Thr Arg Gln Asp Ser Leu Thr Ser Ser Ser Ser
 50 55 60

Ala Met Ala Gly Val Asp Ile Ser Ala Gly Asp Glu Ile Asn Gly Ser
 65 70 75 80

Asp Glu Phe Asp Pro Arg Ser Met Asn Gln Ser Glu Lys Lys Val Leu
 85 90 95

Ser Arg Thr Glu Ser Arg Ser Leu Phe Glu Phe Lys Cys Val Pro Leu
 100 105 110

Tyr Gly Val Thr Ser Ile Cys Gly Arg Arg Pro Glu Met Glu Asp Ser
 115 120 125

Val Ser Thr Ile Pro Arg Phe Leu Gln Val Ser Ser Ser Ser Leu Leu
 130 135 140

Asp Gly Arg Val Thr Asn Gly Phe Asn Pro His Leu Ser Ala His Phe
 145 150 155 160

Phe Gly Val Tyr Asp Gly His Gly Gly Ser Gln Val Ala Asn Tyr Cys
 165 170 175

Arg Glu Arg Met His Leu Ala Leu Thr Glu Glu Ile Val Lys Glu Lys
 180 185 190

Pro Glu Phe Cys Asp Gly Asp Thr Trp Gln Glu Lys Trp Lys Lys Ala
 195 200 205

Leu Phe Asn Ser Phe Met Arg Val Asp Ser Glu Ile Glu Thr Val Ala
 210 215 220

His Ala Pro Glu Thr Val Gly Ser Thr Ser Val Val Ala Val Val Phe
 225 230 235 240

Pro Thr His Ile Phe Val Ala Asn Cys Gly Asp Ser Arg Ala Val Leu
 245 250 255

Cys Arg Gly Lys Thr Pro Leu Ala Leu Ser Val Asp His Lys Pro Asp
 260 265 270

Arg Asp Asp Glu Ala Ala Arg Ile Glu Ala Ala Gly Gly Lys Val Ile
 275 280 285

Arg Trp Asn Gly Ala Arg Val Phe Gly Val Leu Ala Met Ser Arg Ser
 290 295 300

Ile Gly Asp Arg Tyr Leu Lys Pro Ser Val Ile Pro Asp Pro Glu Val
 305 310 315 320

Thr Ser Val Arg Arg Val Lys Glu Asp Asp Cys Leu Ile Leu Ala Ser
 325 330 335

Asp Gly Leu Trp Asp Val Met Thr Asn Glu Glu Val Cys Asp Leu Ala
 340 345 350

Arg Lys Arg Ile Leu Leu Trp His Lys Lys Asn Ala Met Ala Gly Glu
 355 360 365

Ala Leu Leu Pro Ala Glu Lys Arg Gly Glu Gly Lys Asp Pro Ala Ala
 370 375 380

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

Lys Asp Asn Ile Ser Val Val Val Val Asp Leu Lys Gly Ile Arg Lys
 405 410 415

Phe Lys Ser Lys Ser Leu Asn
 420

<210> 92
 <211> 612
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polipéptido sintético

<400> 92

ES 2 758 227 T3

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

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

Asn Thr Ile Lys Glu Pro Gly Leu Cys Pro Ser Val Ser Ser Asn Asp
515 520 525

Gln Gln Val Pro Ser Ala Val Arg Tyr Asn Gly Ser Lys Arg Val Lys
530 535 540

Pro Glu Glu Glu Glu Glu Arg Asp Met Lys Lys Ser Arg Gly Phe Asp
545 550 555 560

Glu Arg Glu Leu Phe Ser Thr Ala Glu Ser Ser Ser Ser Ser Ser Val
565 570 575

Phe Phe Val Ser Gln Ser Cys Ser Leu Ala Ser Glu Gly Lys Asn Leu
580 585 590

Glu Gly Ile Gln Asp Ser Ser Asp Gln Ile Thr Thr Ser Leu Gly Lys
595 600 605

Asn Gly Cys Lys
610

<210> 93

<211> 335

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 93

Met Asn Gly Ala Ile Gly Gly Asp Leu Leu Leu Asn Phe Pro Asp Met
1 5 10 15

Ser Val Leu Glu Arg Gln Arg Ala His Leu Lys Tyr Leu Asn Pro Thr
20 25 30

Phe Asp Ser Pro Leu Ala Gly Phe Phe Ala Asp Ser Ser Met Ile Thr
35 40 45

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

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

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

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

<210> 94

<211> 533

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

5

<400> 94

```

Met Lys Arg Asp His His His His His His Gln Asp Lys Lys Thr Met
1      5      10      15

Met Met Asn Glu Glu Asp Asp Gly Asn Gly Met Asp Glu Leu Leu Ala
20      25      30

Val Leu Gly Tyr Lys Val Arg Ser Ser Glu Met Ala Asp Val Ala Gln
35      40      45

Lys Leu Glu Gln Leu Glu Val Met Met Ser Asn Val Gln Glu Asp Asp
50      55      60

Leu Ser Gln Leu Ala Thr Glu Thr Val His Tyr Asn Pro Ala Glu Leu
65      70      75      80

Tyr Thr Trp Leu Asp Ser Met Leu Thr Asp Leu Asn Pro Pro Ser Ser
85      90      95

Asn Ala Glu Tyr Asp Leu Lys Ala Ile Pro Gly Asp Ala Ile Leu Asn
100     105     110

Gln Phe Ala Ile Asp Ser Ala Ser Ser Ser Asn Gln Gly Gly Gly Gly
115     120     125

Asp Thr Tyr Thr Thr Asn Lys Arg Leu Lys Cys Ser Asn Gly Val Val
130     135     140

Glu Thr Thr Thr Ala Thr Ala Glu Ser Thr Arg His Val Val Leu Val
145     150     155     160

Asp Ser Gln Glu Asn Gly Val Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys
165     170     175

Ala Glu Ala Val Gln Lys Glu Asn Leu Thr Val Ala Glu Ala Leu Val
180     185     190

Lys Gln Ile Gly Phe Leu Ala Val Ser Gln Ile Gly Ala Met Arg Lys
195     200     205

Val Ala Thr Tyr Phe Ala Glu Ala Leu Ala Arg Arg Ile Tyr Arg Leu
210     215     220

```

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

ES 2 758 227 T3

Ala His Ile Gly Ser Asn Ala Phe Lys Gln Ala Ser Met Leu Leu Ala
485 490 495

Leu Phe Asn Gly Gly Glu Gly Tyr Arg Val Glu Glu Ser Asp Gly Cys
500 505 510

Leu Met Leu Gly Trp His Thr Arg Pro Leu Ile Ala Thr Ser Ala Trp
515 520 525

Lys Leu Ser Thr Asn
530

<210> 95
<211> 345
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 95

Met Ala Ala Ser Asp Glu Val Asn Leu Ile Glu Ser Arg Thr Val Val
1 5 10 15

Pro Leu Asn Thr Trp Val Leu Ile Ser Asn Phe Lys Val Ala Tyr Asn
20 25 30

Ile Leu Arg Arg Pro Asp Gly Thr Phe Asn Arg His Leu Ala Glu Tyr
35 40 45

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

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

Tyr Arg Pro Ala Tyr Ala Asp Gln Glu Gln Pro Pro Ser Ile Leu Asp
85 90 95

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

His Gly Gly Ser Phe Ala His Ser Ser Ala Asn Ser Ala Ile Tyr Asp
115 120 125

Thr Leu Cys Arg Arg Leu Val Gly Leu Cys Lys Cys Val Val Val Ser
130 135 140

```

Val Asn Tyr Arg Arg Ala Pro Glu Asn Pro Tyr Pro Cys Ala Tyr Asp
145                               150                               155                               160

Asp Gly Trp Ile Ala Leu Asn Trp Val Asn Ser Arg Ser Trp Leu Lys
                               165                               170                               175

Ser Lys Lys Asp Ser Lys Val His Ile Phe Leu Ala Gly Asp Ser Ser
                               180                               185                               190

Gly Gly Asn Ile Ala His Asn Val Ala Leu Arg Ala Gly Glu Ser Gly
                               195                               200                               205

Ile Asp Val Leu Gly Asn Ile Leu Leu Asn Pro Met Phe Gly Gly Asn
210                               215                               220

Glu Arg Thr Glu Ser Glu Lys Ser Leu Asp Gly Lys Tyr Phe Val Thr
225                               230                               235                               240

Val Arg Asp Arg Asp Trp Tyr Trp Lys Ala Phe Leu Pro Glu Gly Glu
                               245                               250                               255

Asp Arg Glu His Pro Ala Cys Asn Pro Phe Ser Pro Arg Gly Lys Ser
                               260                               265                               270

Leu Glu Gly Val Ser Phe Pro Lys Ser Leu Val Val Val Ala Gly Leu
275                               280                               285

Asp Leu Ile Arg Asp Trp Gln Leu Ala Tyr Ala Glu Gly Leu Lys Lys
290                               295                               300

Ala Gly Gln Glu Val Lys Leu Met His Leu Glu Lys Ala Thr Val Gly
305                               310                               315                               320

Phe Tyr Leu Leu Pro Asn Asn Asn His Phe His Asn Val Met Asp Glu
                               325                               330                               335

Ile Ser Ala Phe Val Asn Ala Glu Cys
                               340                               345

```

<210> 96

<211> 358

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 96

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

Asp Arg Asp His Pro Ala Cys Asn Pro Phe Gly Pro Arg Gly Gln Ser
260 265 270

Leu Lys Gly Val Asn Phe Pro Lys Ser Leu Val Val Val Ala Gly Leu
275 280 285

Asp Leu Val Gln Asp Trp Gln Leu Ala Tyr Val Asp Gly Leu Lys Lys
290 295 300

Thr Gly Leu Glu Val Asn Leu Leu Tyr Leu Lys Gln Ala Thr Ile Gly
305 310 315 320

Phe Tyr Phe Leu Pro Asn Asn Asp His Phe His Cys Leu Met Glu Glu
325 330 335

Leu Asn Lys Phe Val His Ser Ile Glu Asp Ser Gln Ser Lys Ser Ser
340 345 350

Pro Val Leu Leu Thr Pro
355

<210> 97
<211> 344
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 97

Met Ala Gly Ser Glu Glu Val Asn Leu Ile Glu Ser Lys Thr Val Val
1 5 10 15

Pro Leu Asn Thr Trp Val Leu Ile Ser Asn Phe Lys Leu Ala Tyr Asn
20 25 30

Leu Leu Arg Arg Pro Asp Gly Thr Phe Asn Arg His Leu Ala Glu Phe
35 40 45

Leu Asp Arg Lys Val Pro Ala Asn Ala Asn Pro Val Asn Gly Val Phe
50 55 60

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

Tyr Arg Pro Ala Asp Ala Gly Thr Ser Pro Ser Ile Thr Asp Leu Gln
85 90 95

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

<211> 113
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> polipéptido sintético

<400> 98

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ala Val Ser Gly Leu Arg Pro Val Gln Ala Gln Ala Gln Ser Asp
20 25 30

Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met
35 40 45

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu
50 55 60

Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Ala Thr Arg
65 70 75 80

Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly
85 90 95

Gln Arg Ser Asp Val Tyr Ser Asp Leu Asn Thr Gln Arg Pro Tyr Tyr
100 105 110

Lys

10

<210> 99
<211> 112
<212> PRT
15 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

20 <400> 99

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ala Val Ser Gly Leu Arg Pro Val Gln Ala Gln Ala Gln Ser Asp
20 25 30

Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met
35 40 45

ES 2 758 227 T3

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu
50 55 60

Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Thr Arg Lys
65 70 75 80

Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly Gln
85 90 95

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

<210> 100

<211> 102

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 100

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

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

Ala Gly Ile Val Met Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu
35 40 45

Ala Val Tyr Phe Leu Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala
50 55 60

Glu Ala Ala Thr Arg Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr
65 70 75 80

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

Gln Arg Pro Tyr Tyr Lys
100

<210> 101

<211> 101

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 101

ES 2 758 227 T3

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

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

Ala Gly Ile Val Met Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu
35 40 45

Ala Val Tyr Phe Leu Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala
50 55 60

Glu Ala Thr Arg Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln
65 70 75 80

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

Arg Pro Tyr Tyr Lys
100

<210> 102

<211> 21

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> polipéptido sintético

<400> 102

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

Asp Leu Asn Thr Gln
20

15 <210> 103

<211> 86

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> polipéptido sintético

<400> 103

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

25

Ala Ala Leu Gly Glu Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu
20 25 30

Phe Leu Tyr Gly Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile
35 40 45

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

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

His Glu Lys Pro Pro Gln
85

<210> 104
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 104

Asp Gly Val Tyr Thr Gly Leu Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Lys His Glu
20

<210> 105
<211> 171
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 105

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
20 25 30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
35 40 45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
50 55 60

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

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

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
100 105 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
115 120 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
130 135 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145 150 155 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
165 170

<210> 106

<211> 127

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 106

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
20 25 30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
35 40 45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
50 55 60

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

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Thr Ala Asp Thr Gln
85 90 95

Ala Leu Leu Arg Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp
100 105 110

Asp Ala Gln Tyr Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
115 120 125

<210> 107

<211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 107

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

His Leu Gly Gly Asn
20

<210> 108

<211> 207

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 108

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
20 25 30

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

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
115 120 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195 200 205

<210> 109

<211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 109

Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser
1 5 10 15

Gly Leu Asn Gln Arg
20

<210> 110

<211> 182

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 110

Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu
1 5 10 15

Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys
20 25 30

Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala
35 40 45

Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe
50 55 60

Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp
65 70 75 80

Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro
85 90 95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala
100 105 110

Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val
115 120 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln
130 135 140

Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr
145 150 155 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly
165 170 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn
180

<210> 111
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 111

Asp Gln Leu Tyr Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser
1 5 10 15

His Leu Gln Gly Asn
20

<210> 112
<211> 163
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 112

Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu
 1 5 10 15

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

Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala
 35 40 45

Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 50 55 60

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 65 70 75 80

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 85 90 95

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 100 105 110

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
 115 120 125

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 130 135 140

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 145 150 155 160

Pro Pro Arg

<210> 113
 <211> 164
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polipéptido sintético

<400> 113

Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu
 1 5 10 15

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

ES 2 758 227 T3

Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala
35 40 45

Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
50 55 60

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
65 70 75 80

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
85 90 95

Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
100 105 110

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
115 120 125

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
130 135 140

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
145 150 155 160

Leu Pro Pro Arg

<210> 114
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 114

Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
1 5 10 15

Val Leu Asp Lys Arg
20

<210> 115
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 115

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
1 5 10 15

Ser Glu Ile Gly Met Lys
20

<210> 116

<211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 116

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Ala Leu His Met Gln
20

<210> 117

<211> 226

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 117

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

Leu Leu Phe Leu Leu Ser Ala Val Tyr Leu Gly Pro Gly Cys Gln Ala
20 25 30

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

Asp Ala His Phe Gln Cys Pro His Asn Ser Ser Asn Asn Ala Asn Val
50 55 60

Thr Trp Trp Arg Val Leu His Gly Asn Tyr Thr Trp Pro Pro Glu Phe
65 70 75 80

Leu Gly Pro Gly Glu Asp Pro Asn Gly Thr Leu Ile Ile Gln Asn Val
85 90 95

Asn	Lys	Ser	His	Gly	Gly	Ile	Tyr	Val	Cys	Arg	Val	Gln	Glu	Gly	Asn
			100					105					110		
Glu	Ser	Tyr	Gln	Gln	Ser	Cys	Gly	Thr	Tyr	Leu	Arg	Val	Arg	Gln	Pro
		115					120					125			
Pro	Pro	Arg	Pro	Phe	Leu	Asp	Met	Gly	Glu	Gly	Thr	Lys	Asn	Arg	Ile
	130					135					140				
Ile	Thr	Ala	Glu	Gly	Ile	Ile	Leu	Leu	Phe	Cys	Ala	Val	Val	Pro	Gly
145					150					155					160
Thr	Leu	Leu	Leu	Phe	Arg	Lys	Arg	Trp	Gln	Asn	Glu	Lys	Leu	Gly	Leu
				165					170					175	
Asp	Ala	Gly	Asp	Glu	Tyr	Glu	Asp	Glu	Asn	Leu	Tyr	Glu	Gly	Leu	Asn
			180					185					190		
Leu	Asp	Asp	Cys	Ser	Met	Tyr	Glu	Asp	Ile	Ser	Arg	Gly	Leu	Gln	Gly
		195					200					205			
Thr	Tyr	Gln	Asp	Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Ile	Gly	Asp	Val	Gln	Leu	Glu
	210					215					220				
Lys	Pro														
	225														

<210> 118
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polipéptido sintético

<400> 118

ES 2 758 227 T3

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

<210> 119

5 <211> 21

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> polipéptido sintético

<400> 119

Glu Asn Leu Tyr Glu Gly Leu Asn Leu Asp Asp Cys Ser Met Tyr Glu
1 5 10 15

Asp Ile Ser Arg Gly
20

<210> 120
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 120

Arg Pro Arg Arg Ser Pro Ala Gln Asp Gly Lys Val Tyr Ile Asn Met
1 5 10 15

Pro Gly Arg Gly
20

<210> 121
<211> 68
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 121

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser
20 25 30

Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly
35 40 45

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

Ala Tyr Arg Ser
65

<210> 122
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 122

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

5 <210> 123
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> polipéptido sintético
 <400> 123

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

15 <210> 124
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> polipéptido sintético
 <400> 124

His His His His His
1 5

30 <210> 125
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> polipéptido sintético
 <400> 125

His His His His His His
1 5

40 <210> 126
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> polipéptido sintético
 <400> 126

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5

50 <210> 127
 <211> 5
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> polipéptido sintético
 5 <400> 127

 Arg Tyr Ile Arg Ser
 1 5

 10 <210> 128
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> polipéptido sintético
 <400> 128

 Phe His His Thr
 1
 20
 <210> 129
 <211> 17
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> polipéptido sintético
 30 <400> 129

 Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg
 1 5 10 15

 Ala

 35 <210> 130
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> polipéptido sintético
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(3)
 45 <223> los aminoácidos en estas posiciones pueden ser cualquier aminoácido
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 50 <223> los aminoácidos en esta posición pueden ser Leu o Ile
 <400> 130

 Tyr Xaa Xaa Xaa
 1

<210> 131
<211> 16
<212> PRT
5 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(3)
<223> los aminoácidos en estas posiciones pueden ser cualquier aminoácido

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> los aminoácidos en estas posiciones pueden ser Leu o Ile

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(10)
<223> los aminoácidos en estas posiciones pueden ser cualquier aminoácido

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(12)
<223> los aminoácidos en estas posiciones pueden estar presentes o ausentes de modo que están presentes uno o dos aminoácidos. Los aminoácidos en estas posiciones pueden ser cualquier aminoácido

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(15)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

35 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> los aminoácidos en estas posiciones pueden ser Leu o Ile

40 <400> 131

	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa
	1				5					10					15	

45 <210> 132
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 132
gattacaagg atgacgatga caag

55 <210> 133
<211> 732
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

60 <220>
<223> polipéptido sintético

ES 2 758 227 T3

<400> 133

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

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

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

Gly Gly Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Ala
 50 55 60

Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys
 65 70 75 80

Thr Gly Gly Thr Thr Ala Cys Thr Cys Ala Thr Thr Cys Ala Cys Thr
 85 90 95

Gly Gly Cys Thr Ala Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr
 100 105 110

Gly Gly Gly Thr Gly Ala Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys Cys Ala
 115 120 125

Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly
 130 135 140

Thr Gly Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Cys Thr Thr Ala Thr Thr Ala
 145 150 155 160

Cys Thr Cys Cys Thr Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Gly Thr Gly Cys
 165 170 175

Thr Thr Cys Thr Ala Gly Cys Thr Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Gly
 180 185 190

Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly
 195 200 205

Cys Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala Gly Ala
 210 215 220

Cys Ala Ala Gly Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Ala
 225 230 235 240

Gly Cys Cys Thr Ala Cys Ala Thr Gly Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys
 245 250 255

Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Gly Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly Ala
 260 265 270

Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Thr
 275 280 285

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

Gly Gly Ala Thr Thr Thr Ala Thr Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
545 550 555 560

Cys Ala Ala Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Ala
565 570 575

Gly Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala
580 585 590

Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly
595 600 605

Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Thr Ala Cys Thr Cys Thr Cys Thr Cys
610 615 620

Ala Cys Ala Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Gly
625 630 635 640

Ala Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Cys
645 650 655

Ala Ala Cys Thr Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly
660 665 670

Cys Ala Gly Thr Gly Gly Ala Gly Thr Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys
675 680 685

Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Gly Thr Ala Cys Gly Gly Thr Gly Cys
690 695 700

Thr Gly Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Thr Gly Gly Ala Ala
705 710 715 720

Ala Thr Cys Ala Ala Ala Gly Cys Thr Ala Gly Cys
725 730

<210> 134
<211> 244
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polipéptido sintético

<400> 134

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

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

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

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

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

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

Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser
145 150 155 160

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly
165 170 175

Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly
180 185 190

Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu
195 200 205

Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220

Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
225 230 235 240

Ile Lys Ala Ser

<210> 135
<211> 729
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> polinucleótido sintético

5

<400> 135

```

ggatcccagg tgcagctgca ggaatctggc cctggcctcg tgaagcccag cgagacactg      60
agcctgacct gtaccgtgtc tggcggtctc gtgtccagcg gcagctacta ctggctcctgg      120
atcagacagc cccctggcaa gggcctggaa tggatcggct acatctacta cagcggctcc      180
accaactaca accccagcct gaagtccaga gtgaccatca gcgtggacac cagcaagaac      240
cagttctccc tgaagctgag cagcgtgaca gccgccgata ccgccgtgta ctactgtgcc      300
agagagggca agaacggcgc cttcgacatc tggggccagg gcacaatggg caccgtgtca      360
tctgggtggag gaggatctgg gggaggcgga agcggaggcg gcggtatctga tattcagatg      420
accagagacc ccagcagcct gagcgctctc gtggggcgaca gagtgacaat tacctgccgg      480
gccagccaga gcatcagcag ctacctgaac tggatatcagc agaagcccgg caaggccccc      540
aaactgctga tctacgccgc cagctctctg cagtctggcg tgcccagcag attttcgggc      600
tctggcagcg gcaccgactt caccctgacc atctctagcc tgcagcccga ggacttcgcc      660
acctactact gccagcagag ctacagcacc cccctgacct ttggcggagg caccaaggtg      720
gaaatcaag                                     729

```

10

<210> 136

<211> 243

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> polipéptido sintético

<400> 136

```

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

Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser
          20          25          30

Ser Gly Ser Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
          35          40          45

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn
          50          55          60

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

```

20

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Lys Asn Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 137
<211> 1044
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 137

atggctgcga gcgatgaagt taatottatt gagagcagaa cagtggttcc tctcaataca 60

tgggttttaa tatccaactt caaagtagcc tacaatatcc ttcgtcgccc tgatggaacc 120

tttaaccgac acttagctga gtatctagac cgtaaagtca ctgcaaacgc caatccggtt 180

gatgggggtt tctcggttca tgtottgatt gatcgagga tcaatcttct aagcagagtc 240

tatagaccag cttatgcaga tcaagagcaa cctoctagta ttttagatct cgagaagcct 300

```

gttgatggcg acattgtccc tggtatattg ttcttccatg gaggtagctt tgctcattct      360
tctgcaaaca gtgccatcta cgatactctt tgcgcaggc ttgttggttt gtgcaagtgt      420
gttggtgtct ctgtgaatta tcggcgtgca ccagagaatc catacccttg tgcttatgat      480
gatggttgga ttgctcttaa ttgggttaac tcgagatctt ggcttaaadc caagaaagac      540
tcaaaggccc atattttctt ggctgggtgat agctctggag gtaacatcgc gcataatgtg      600
gctttaagag cgggtgaatc gggaatcgat gttttgggga acattctgct gaatcctatg      660
tttggtggga atgagagaac ggagtctgag aaaagtttgg atgggaaata ctttgtgacg      720
gtagagagacc gcgattggta ctggaaagcg tttttacccg agggagaaga tagagagcat      780
ccagcgtgta atccgtttag cccgagaggg aaaagcttag aaggagttag tttccccaag      840
agtcttgtgg ttgtcgcggg tttggatttg attagagatt ggcagttggc atacgcggaa      900
gggctcaaga aagcgggtca agaggttaag cttatgcatt tagagaaagc aactgttggg      960
ttttacctct tgcctaataa caatcatttc cataatgtaa tggatgagat ttccggcgttt     1020
gtaaacgcgg aatgtatgcg tgac                                           1044

```

<210> 138
 <211> 348
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polipéptido sintético
 <400> 138

```

Met Ala Ala Ser Asp Glu Val Asn Leu Ile Glu Ser Arg Thr Val Val
1          5          10          15

Pro Leu Asn Thr Trp Val Leu Ile Ser Asn Phe Lys Val Ala Tyr Asn
20        25        30

Ile Leu Arg Arg Pro Asp Gly Thr Phe Asn Arg His Leu Ala Glu Tyr
35        40        45

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

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

Tyr Arg Pro Ala Tyr Ala Asp Gln Glu Gln Pro Pro Ser Ile Leu Asp
85        90        95

Leu Glu Lys Pro Val Asp Gly Asp Ile Val Pro Val Ile Leu Phe Phe

```

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

<210> 139

<211> 276
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 139

```

atgaagagag atcatcatca tcatcatcat caagataaga agactatgat gatgaatgaa      60
gaagacgacg gtaacggcat ggatgagctt ctagctgttc ttggttacaa ggtaggtca      120
tccgaaatgg ctgatgttgc tcagaaactc gagcagcttg aagttatgat gtctaattgtt      180
caagaagacg atctttctca actcgctact gagactgttc actataatcc ggcggagctt      240
tacacgtggc ttgattctat gctcaccgac cttaat                                276

```

10

<210> 140
<211> 92
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15

<220>
<223> polipéptido sintético

20 <400> 140

```

Met Lys Arg Asp His His His His His His Gln Asp Lys Lys Thr Met
1              5              10              15

Met Met Asn Glu Glu Asp Asp Gly Asn Gly Met Asp Glu Leu Leu Ala
                20              25              30

Val Leu Gly Tyr Lys Val Arg Ser Ser Glu Met Ala Asp Val Ala Gln
35              40              45

Lys Leu Glu Gln Leu Glu Val Met Met Ser Asn Val Gln Glu Asp Asp
50              55              60

Leu Ser Gln Leu Ala Thr Glu Thr Val His Tyr Asn Pro Ala Glu Leu
65              70              75              80

Tyr Thr Trp Leu Asp Ser Met Leu Thr Asp Leu Asn
85              90

```

25 <210> 141
<211> 729
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> polinucleótido sintético

<400> 141

```

ggatcccagg tgcagctggt gcagtctggc gccgaagtga aaagaccagg cgccagcgtg      60
caggtctcct gtagagccag cggctacagc atcaacacct actacatgca gtgggtgcgc      120
caggccccag gcgctggact ggaatggatg ggcgatgatca accccagcgg cgtgacaagc      180
tacgcccaga aattccaggg cagagtgacc ctgaccaacg acaccagcac caacacagtg      240
tacatgcagc tgaacagcct gaccagcgcc gacaccgccg tgtactactg tgccagatgg      300
gccctgtggg gcgacttcgg catggatgtg tggggcaagg gcaccctcgt gaccgtgtct      360
agcggaggcg gaggatctgg cggaggggga tctggaggcg gcggaagcga catccagatg      420
accagagcc ctagcaccct gagcgccagc atcggcgata gagtgaccat cacctgtcgg      480
gccagcgagg gcatctatca ctggctggcc tggatatcagc agaagcccgg caaggcccc      540
aagctgctga tctacaaggc cagctctctg gcctctggcg cccctagcag attttctggc      600
agcggctcgg gcaccgactt caccctgaca atcagcagcc tgcagcccga cgacttcgcc      660
acctactatt gccagcagta cagcaactac cccctgacct tcggcggagg caccaagctg      720
gaaatcaag                                     729

```

<210> 142
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> polipéptido sintético

 <400> 142

```

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

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

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

Trp Met Gly Val Ile Asn Pro Ser Gly Val Thr Ser Tyr Ala Gln Lys
          50              55              60

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

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

Cys Ala Arg Trp Ala Leu Trp Gly Asp Phe Gly Met Asp Val Trp Gly
          100             105             110

```

Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Thr Leu Ser Ala Ser Ile Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Ser Glu Gly Ile Tyr His Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Ala Ser
180 185 190

Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Tyr Ser Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys

5 <210> 143
<211> 135
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> polinucleótido sintético
<400> 143

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60
tocctgcgcc cagagggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
gacttcgcct gtgat 135

15 <210> 144
<211> 204
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> polinucleótido sintético
<400> 144

ES 2 758 227 T3

ttttgggtgc tgggtgggtgt tgggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg	60
gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag aggagcaggc tcctgcacag tgactacatg	120
aacatgactc cccgcgcgcc cgggcccacc cgcaagcatt accagcccta tgccccacca	180
cgcgacttcg cagcctatcg ctcc	204

<210> 145
 <211> 111
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> polinucleótido sintético

<400> 145

cggagggacc agaggctgcc ccccgatgcc cacaagcccc ctgggggagg cagtttccgg	60
acccccatcc aagaggagca ggccgacgcc cactccaccc tggccaagat c	111

REIVINDICACIONES

1. Un receptor de antígeno quimérico (CAR) heterodimérico condicionalmente activo que comprende:

- 5 un primer polipéptido que comprende un dominio de unión a antígeno que comprende una región variable de anticuerpo monocatenario que se une específicamente a CD19 o un antígeno expresado por un linfocito B, un primer miembro del par de dimerización y un primer dominio transmembrana; y
 10 un segundo polipéptido que comprende un segundo miembro de un par de dimerización, un segundo dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular;
 en donde un agente de dimerización dimeriza el CAR heterodimérico cuando una célula expresa los primero y segundo polipéptidos con el agente de dimerización unido entre los miembros del par de dimerización de los primero y segundo polipéptidos.

15 2. El CAR heterodimérico condicionalmente activo de la reivindicación 1, en donde el dominio de señalización intracelular es un dominio de señalización intracelular de CD3-zeta o un dominio de señalización intracelular de ZAP-70.

20 3. El CAR heterodimérico condicionalmente activo de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el primer polipéptido, el segundo polipéptido o ambos comprenden un polipéptido coestimulador.

4. El CAR heterodimérico condicionalmente activo de la reivindicación 3, en donde el polipéptido (o polipéptidos) coestimulador se selecciona del grupo que consiste en: 4-1BB, CD28, ICOS, OX-40, BTLA, CD27, CD30, GITR y HVEM.

25 5. El CAR heterodimérico condicionalmente activo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el primero y el segundo miembros del par de dimerización se seleccionan de:

- 30 a) proteína de unión a FK506 (FKBP) y proteína asociada a FKBP-rapamicina (FRB);
 b) una proteína insensible al ácido giberélico (GAI) y una proteína de receptor de giberelina (GID1);
 c) FKBP y subunidad catalítica A de la calcineurina (CnA);
 d) una proteína de receptor de ácido abscísico (PYL) y una proteína insensible al ácido abscísico (ABI);
 e) FKBP y ciclofilina; y
 f) proteína de unión a FK506 (FKBP) y FKBP;
 g) girasa B (GyrB) y GyrB;
 35 h) dihidrofolato reductasa (DHFR) y DHFR; y
 i) DmrB y DmrB.

40 6. Una o más moléculas de ácido nucleico que codifican el CAR heterodimérico condicionalmente activo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

7. Un receptor de antígeno quimérico (CAR) heterodimérico condicionalmente activo que comprende:

un primer polipéptido que comprende:

- 45 un primer miembro de un par de unión específica;
 un primer miembro de un par de dimerización; y
 un primer dominio transmembrana; y

un segundo polipéptido que comprende:

- 50 un segundo miembro de un par de dimerización;
 un segundo dominio transmembrana; y
 un dominio de señalización intracelular,

55 en donde los primero y segundo miembros del par de dimerización dimerizan en presencia de un agente de dimerización.

60 8. El CAR heterodimérico condicionalmente activo de la reivindicación 7, en donde el primer polipéptido, el segundo polipéptido o ambos primero y segundo polipéptidos comprenden además un dominio coestimulador.

9. El CAR heterodimérico condicionalmente activo de las reivindicaciones 7 u 8, en donde el primer dominio transmembrana está interpuesto entre el primer miembro de un par de unión específica y el primer miembro del par de dimerización, y el segundo miembro del par de dimerización está interpuesto entre el segundo dominio transmembrana y el dominio de señalización intracelular.

65 10. Un primer polipéptido de un receptor de antígeno quimérico (CAR) heterodimérico condicionalmente activo,

comprendiendo el polipéptido:

- un primer miembro de un par de unión específica;
 - un primer miembro de un par de dimerización; y
- 5 un dominio transmembrana, en donde, cuando el primer polipéptido se expresa mediante una célula que expresa un segundo polipéptido del CAR heterodimérico condicionalmente activo en presencia de un agente de dimerización, el agente de dimerización está unido entre los miembros del par de dimerización, dimerizando de este modo los primero y segundo polipéptidos, y en donde el segundo polipéptido comprende:
- 10 un segundo miembro del par de dimerización;
- un dominio transmembrana; y
- un dominio de señalización intracelular.
- 11. El primer polipéptido de la reivindicación 10, que comprende además un dominio coestimulador, opcionalmente
- 15 seleccionado del grupo que consiste en: 4-1BB, CD28, ICOS, OX-40, BTLA, CD27, CD30, GITR y HVEM.
- 12. El primer polipéptido de las reivindicaciones 10 u 11, en donde el dominio transmembrana está interpuesto entre el primer miembro de un par de unión específica y el primer miembro de un par de dimerización.
- 20 13. Un segundo polipéptido de un receptor de antígeno quimérico (CAR) heterodimérico condicionalmente activo, comprendiendo el polipéptido:
- un segundo miembro de un par de dimerización;
- un dominio transmembrana; y
- 25 un dominio de señalización intracelular, en donde, cuando el segundo polipéptido se expresa mediante una célula que expresa un primer polipéptido del CAR heterodimérico condicionalmente activo en presencia de un agente de dimerización, el agente de dimerización está unido entre los miembros del par de dimerización, dimerizando de este modo los primero y segundo polipéptidos, y en donde el primer polipéptido comprende:
- 30 un primer miembro de un par de unión específica;
- un primer miembro del par de dimerización; y
- un dominio transmembrana.
- 14. El segundo polipéptido de la reivindicación 13, que comprende además un dominio coestimulador, opcionalmente
- 35 seleccionado del grupo que consiste en: 4-1BB, CD28, ICOS, OX-40, BTLA, CD27, CD30, GITR y HVEM.
- 15. El segundo polipéptido de las reivindicaciones 13 o 14, en donde el segundo miembro del par de dimerización está interpuesto entre el dominio transmembrana y el dominio de señalización intracelular.

Figuras 1A y 1B. Construcción n.º 122, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-CD19 - bisagra y dominio transmembrana de CD8 alfa - FKBP"

Figura 1A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitépica Myc:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATAACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCACTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGT
GGGTGGCGGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAAGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTACAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSL
SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKLEWLGVWGSSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTD
DTAIYYCAKHHYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO:6)

Figura 1B

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:9)
SLGSGSGSGS (SEQ ID NO:10)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCCTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCTCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (SEQ ID NO:11)

MGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKFDSSRDNRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVG
QRAKLTISPDIYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKE (SEQ ID NO:12)

Figuras 2A y 2B. Construcción n.º 123, que codifica un polipéptido que comprende "FRB - cadena intracelular de CD3 zeta - mCherry"

Figura 2A

FRB:

ATGATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGA
ACGTGAAAGGCATGTTTGGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAA
GGAAACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATG
AAATCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAA
AG (SEQ ID NO:13)

MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
KSGNVKDLLQAWDLYYHVFERRISK (SEQ ID NO:14)

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (SEQ ID
NO:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:18)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

Figura 2B

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGG
MDELYK (SEQ ID NO:22)

Figuras 3A y 3B. Construcción n.º 125, que codifica un CAR convencional que comprende "scFv anti-CD19 - dominio bisagra y transmembrana de CD8 alfa - cadenas intracelulares de 4-1BB y CD3 zeta"

Figura 3A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Myc:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGT
GGGTGGCGGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTGCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTGAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAGTATGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSL
SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTD
DTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO:6)

Figura 3B

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGCGCAGTGACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
(SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTA
SerLeu

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCtCCTCGC (SEQ ID
NO:25)

RVKFSSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:26)

Figura 4

Construcción n.º 126, que codifica la proteína de fusión "FRB - mCherry"

FRB:

ATGATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGA
ACGTGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAA
GGAAACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATG
AAATCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAA
AG (SEQ ID NO:13)

MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
KSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK (SEQ ID NO:14)

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID NO:22)

Figuras 5A y 5B. Construcción n.º 168, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana de CD8 alfa - FRB - cadena intracelular de CD3 zeta - mCherry"

Figura 5A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgggtcacatcctcttctctgcttttgcctccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttggtccggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana de CD8 alfa humano:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACT
GC (SEQ ID NO:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO:30)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)

GSGSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(SEQ ID NO:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
SGNVKDLLQAWDLYYHVFERRISK (SEQ ID NO:34)

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Figura 5B

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (SEQ ID
NO:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:18)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACC
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRTNFPDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID NO:22)

Figuras 6A-6C. Construcción n.º 169, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana de CD8 alfa - FRB - cadenas intracelulares de 4-1BB y CD3 zeta - mCherry"

Figura 6A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttggtccggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana de CD8 alfa humano:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACT
GC (SEQ ID NO:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO:30)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)

GSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(SEQ ID NO:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK (SEQ ID NO:34)

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Figura 6B

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (SEQ ID
NO:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:18)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

Figura 6C

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
 AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
 GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
 ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
 AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
 CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
 ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
 GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
 GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
 GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
 TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
 MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
 MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
 EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID NO:22)

Figuras 7A y 7B. Construcción n.º 170, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana de CD8 alfa - FRB - mCherry"

Figura 7A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgggtcacatcctcttctctgcttttgetcccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttggtccggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana de CD8 alfa humano:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACT
GC (SEQ ID NO:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO:30)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)

GS GSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(SEQ ID NO:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK (SEQ ID NO:34)

Figura 7B

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGAGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGCMDELYK (SEQ ID NO:22)

Figuras 8A y 8B. Construcción n.º 197, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-CD19 - bisagra y dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - FKBP"

Figura 8A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Myc:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTGAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGSGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSL
SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKLEWLGIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTD
DTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO:6)

Figura 8B

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
(SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTA
SerLeu

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)
KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAACTGGAA (SEQ ID NO:11)

MGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKFDSSSRDRNKPFFKFM LGKQEVIRGWEEGVAQMSVG
QRAKLTISPDIYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:12)

Figuras 9A-C. Construcción n.º 206, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - FRB - cadena intracelular de CD3 zeta - mCherry"

Figura 9A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgggtcacatcctcttctctgcttttgcctccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgcctttttacctgtggcacttcaggctcttggttcgggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana de CD8 alfa humano:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACT
GC (SEQ ID NO:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO:30)

Enlazador:

Tctctg
SerLeu

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)
GSGSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

Figura 9B

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCGATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(SEQ ID NO:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (SEQ ID NO:34)

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)
GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (SEQ ID
NO:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:18)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

Figura 9C

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID NO:22)

Figuras 10A y 10B. Construcción n.º 207, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - FRB - mCherry"

Figura 10A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgtgggtcacatcctcttctctgcttttgcgtcccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgcctttttaccctggcacttcaggctcttggtccggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSLPAFYPGTSGSCSGCSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana de CD8 alfa humano:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACT
GC (SEQ ID NO:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO:30)

Enlazador:

Tctctg

SerLeu

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)

GSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

Figura 10B

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCGATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(SEQ ID NO:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (SEQ ID NO:34)

Enlizador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)
GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCCGCCCCCTACGAGGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGCCCCCTGCCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGACGTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID
NO:22)

Figuras 11A-C. Construcción n.º 199, que codifica la proteína de fusión "FRB - Zap70 - mCherry"

Figura 11A

FRB:

ATGATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGA
ACGTGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAA
GGAAACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATG
AAATCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAA
AG (SEQ ID NO:13)

MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
KSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (SEQ ID NO:14)

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Figura 11B**Zap70 humano:**

ATGCCAGACCCCGCGGCATCTGCCCTTCTTCTACGGCAGCATCTCGCGTGCCGAGGCCGAGGAGCACC
TGAAGCTGGCGGGCATGGCGGACGGGCTCTTCCTGCTGCGCCAGTGCCTGCGCTCGCTGGGCGGCTATGT
GCTGTCGCTCGTGACGATGTGCGCTTCCACCCTTTCCCATCGAGCGCCAGCTCAACGGCACCTACGCC
ATTGCCGGCGGCAAAGCGCACTGTGGACCGGCAGAGCTCTGCGAGTTCTACTCGCGGACCCCGACGGGC
TGCCCTGCAACCTGCGCAAGCCGTGCAACCGGCCGTCGGGCCTCGAGCCGCAGCCGGGGGTCTTCGACTG
CCTGCGAGACGCCATGGTGCGTGACTACGTGCGCCAGACGTGGAAGCTGGAGGGCGAGGCCCTGGAGCAG
GCCATCATCAGCCAGGCCCGCAAGTGGAGAAGCTCATTGCTACGACGGCCCACGAGCGGATGCCCTGGT
ACCACAGCAGCCTGACGCGTGAGGAGGCCGAGCGCAAACCTTTACTCTGGGGCGCAGACCGACGGCAAAGTT
CCTGCTGAGGCCGCGGAAGGAGCAGGGCACATACGCCCTGTCCCTCATCTATGGGAAGACGGTGTACCAC
TACCTCATCAGCCAAGACAAGGCGGGCAAGTACTGCATTCCCGAGGGCACCAAGTTTGACACGCTCTGGC
AGCTGGTGGAGTATCTGAAGCTGAAGGCGGACGGGCTCATCTACTGCCTGAAGGAGGCCTGCCCCAACAG
CAGTGCCAGCAACGCCTCAGGGGCTGCTGCTCCCACTCCCAGCCCACCCATCCACGTTGACTCATCCT
CAGAGACGAATCGACACCCTCAACTCAGATGGATACACCCCTGAGCCAGCACGCATAACGTCCCCAGACA
AACC GCGGCCGATGCCCATGGACACGAGCGTGTATGAGAGCCCCTACAGCGACCCAGAGGAGCTCAAGGA
CAAGAAGCTCTTCCTGAAGCGCGATAACCTCCTCATAGCTGACATTGAACTTGCGTGCAGCAACTTTGGC
TCAGTGCGCCAGGGCGTGTACCGCATGCGCAAGAAGCAGATCGACGTGGCCATCAAGGTGCTGAAGCAGG
GCACGGAGAAGGCAGACACGGAAGAGATGATGCGCGAGGCGCAGATCATGCACCAGCTGGACAACCCCTA
CATCGTGCGGCTCATTGGCGTCTGCCAGGCCGAGGCCCTCATGCTGGTCATGGAGATGGCTGGGGGCGGG
CCGCTGCACAAGTTCTTGGTGGCAAGAGGGAGGAGATCCCTGTGAGCAATGTGGCCGAGCTGCTGCACC
AGGTGTCCATGGGGATGAAGTACCTGGAGGAGAAGAACTTTGTGCACCGTGACCTGGCGGCCCGCAACGT
CCTGCTGGTTAACCGGCACTACGCCAAGATCAGCGACTTTGGCCTCTCCAAAGCACTGGGTGCCGACGAC
AGCTACTACACTGCCCCTCAGCAGGGAAGTGGCCGCTCAAGTGGTACGCACCCGAATGCATCAACTTCC
GCAAGTTCTCCAGCCGAGCGATGTCTGGAGCTATGGGGTACCATGTGGGAGGCCTTGTCTTACGGCCA
GAAGCCCTACAAGAAGATGAAAGGGCCGGAGGTGATGGCCTTCATCGAGCAGGGCAAGCGGATGGAGTGC
CCACCAGAGTGTCCACCCGAAGTGTACGCACTCATGAGTGACTGCTGGATCTACAAGTGGGAGGATCGCC
CCGACTTCTGACCGTGGAGCAGCGCATGCGAGCCTGTTACTACAGCCTGGCCAGCAAGGTGGAAGGGCC
CCCAGGCAGCACACAGAAGGCTGAGGCTGCCTGTGCC (SEQ ID NO:35)

MPDPAHLPPFFYGSISRAEAEHLKLAGMADGLFLLRQCLRSLGGYVLSLVHDVRFHHFPIERQLNGTYA
IAGGKAHCGPAELCEFYSRDPDGLPCNLRKPCNRPSGLEPQPGVFDCLRDAMVRDYVRQTWKLEGEALEQ
AII SQAPQVEKLIATTAHERMPWYHSSLTREEAERKLYSGAQTGKFLLRPRKEQGTIALSLIYGKTVYH
YLISQDKAGKYCIPEGTKFDTLWQLVEYLKADGLIYCLKEACPNSSASNASGAAAPTLPAPHPSTLTHP
QRRIDTLNSDGYTPEPARITSPDKPRPMPMDTSVYESPYSDPEELKDKKFLKRDNLLIADIELGCGNFG
SVRQGVYRMRKKQIDVAIKVLKQGTEKADTEEMMREAQIMHQLDNPYIVRLIGVCQAEALMLVMEMAGGG
PLHKFLVGKREEIPVSNVAELLHQVSMGMKYLEEKNFVHRDLAARNVLLVNRHYAKISDFGLSKALGADD
SYYTARSAGKWPLKWYAPPECINFRKFSSRSVDWSYGVTMWEALSYGQKPYKKMKGPEVMAFIEQGKRMEC
PPECPELYALMSDCWIYKWEDRPDLTVEQRM RACYYS LASKVEGPPGSTQKAEAAACA (SEQ ID
NO:36)

Figura 11C

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGACGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID NO:22)

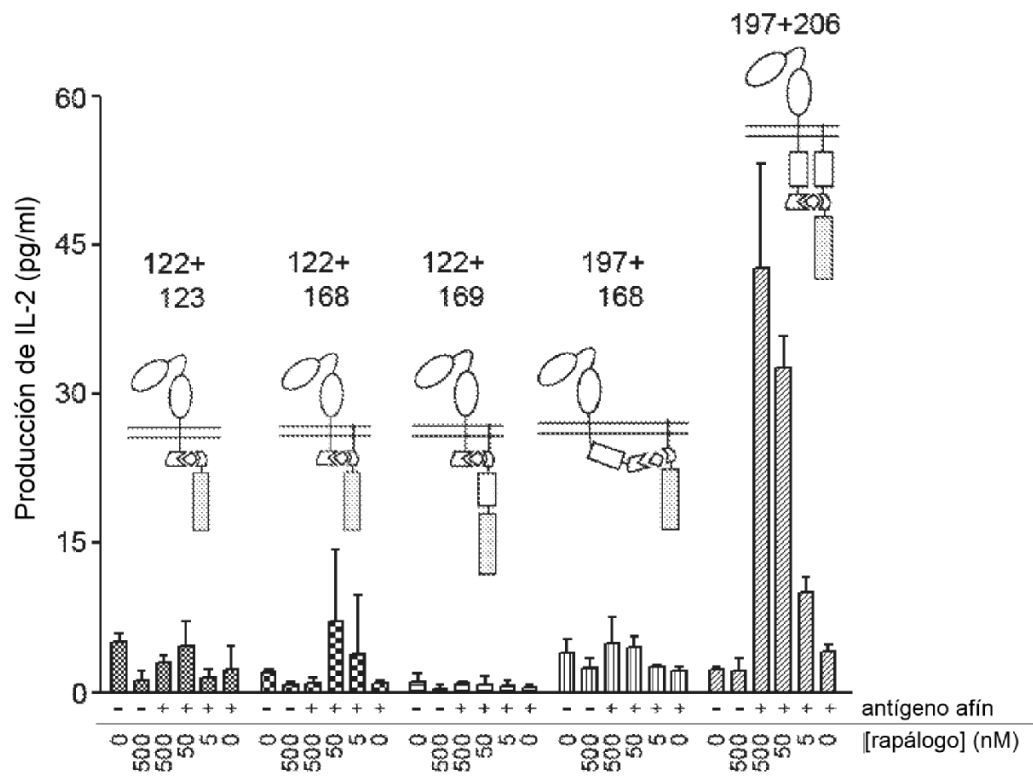


Figura 12

Figura 13

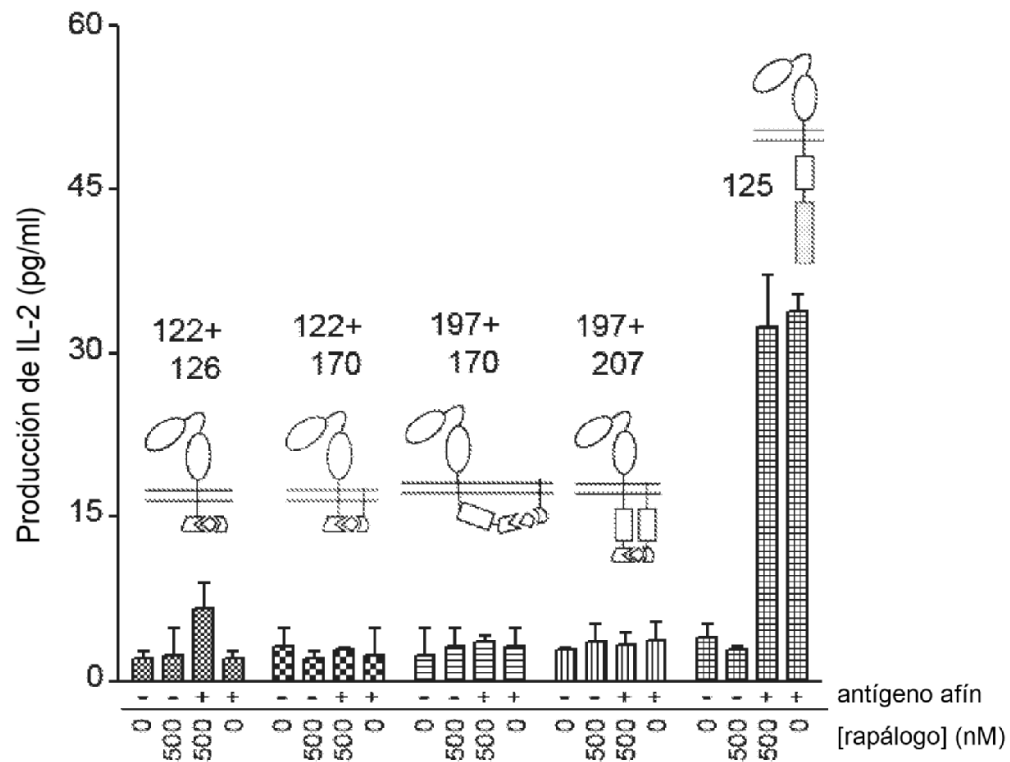


Figura 14

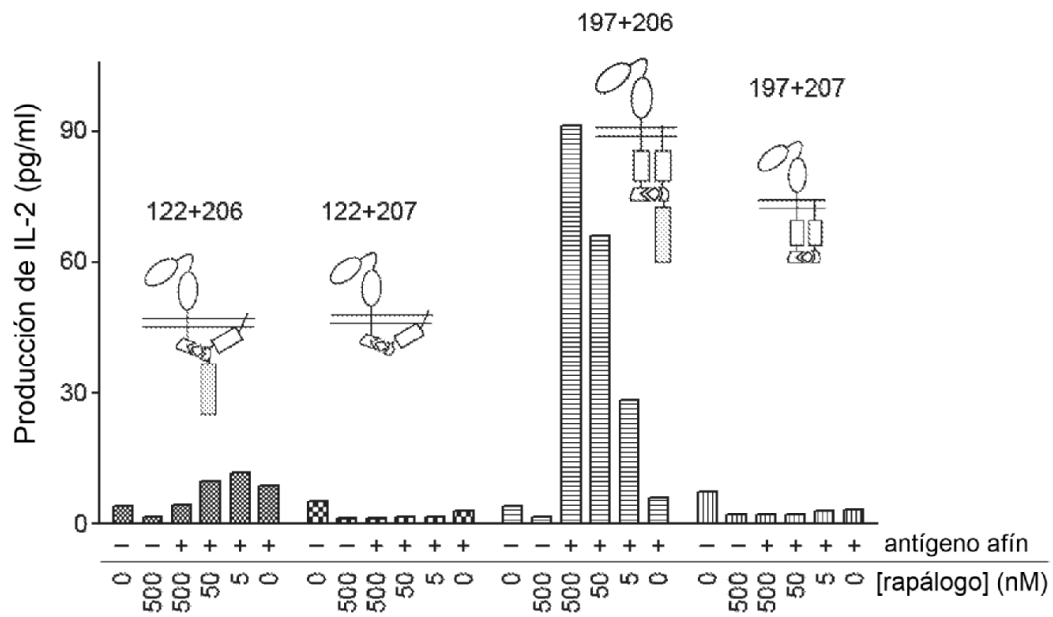


Figura 15

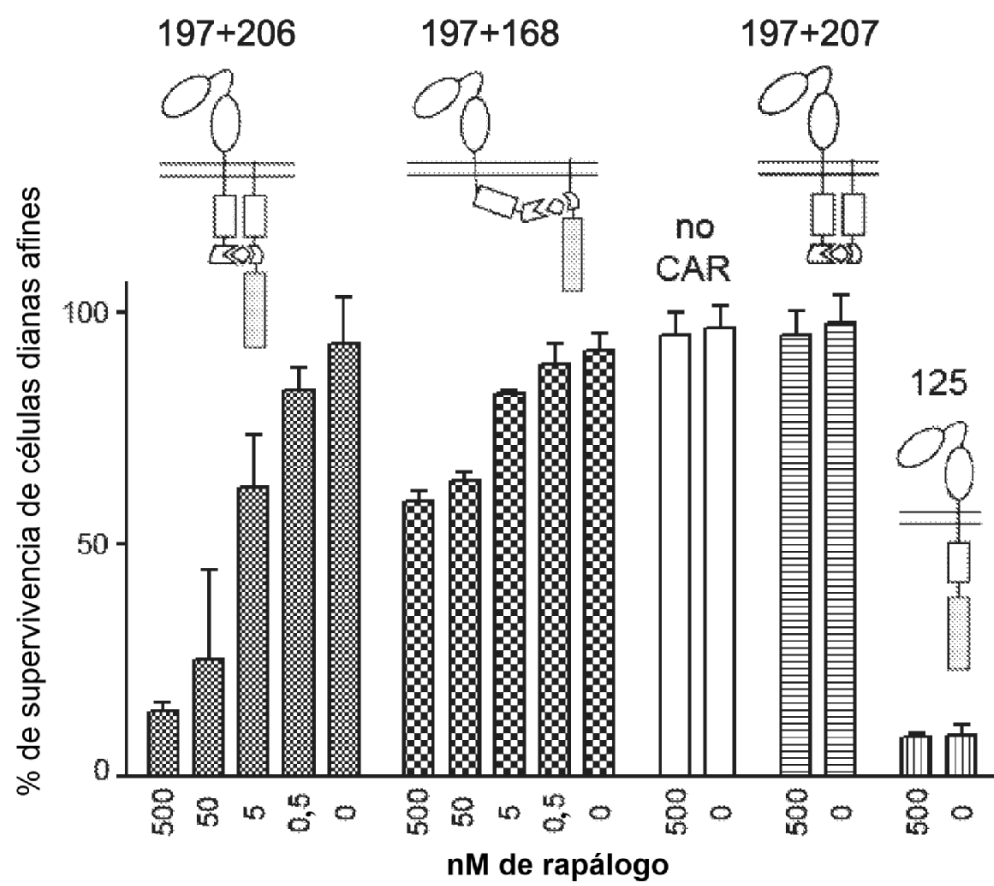


Figura 16

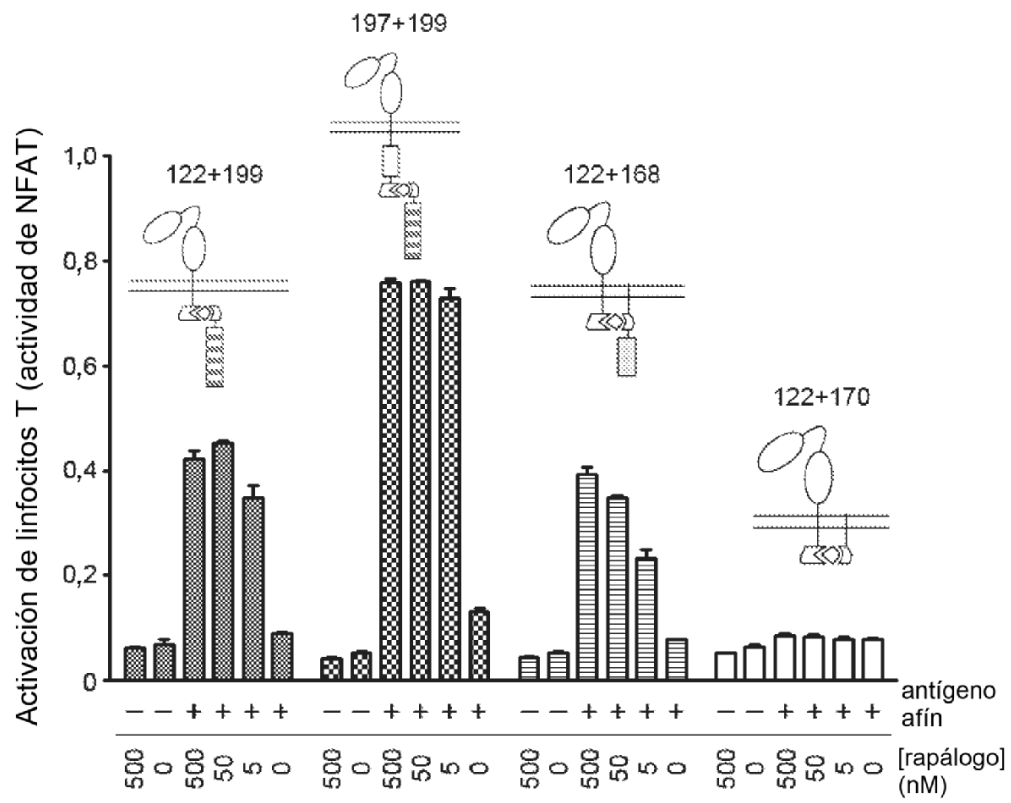


Figura 17

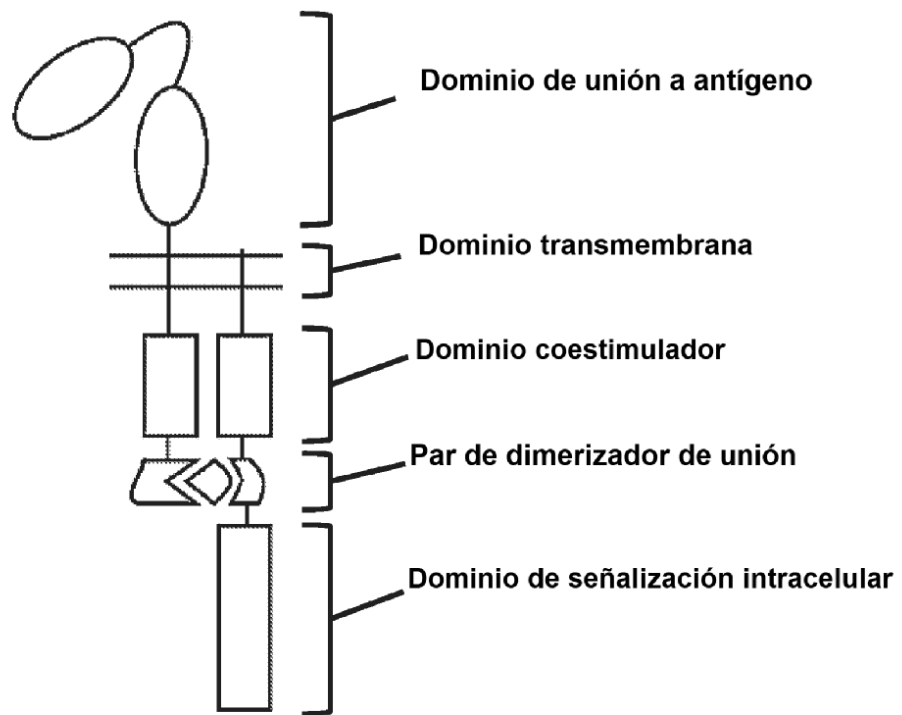


Figura 18A

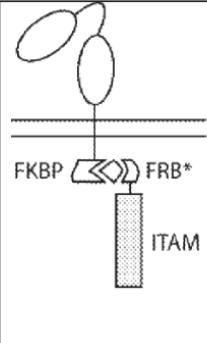
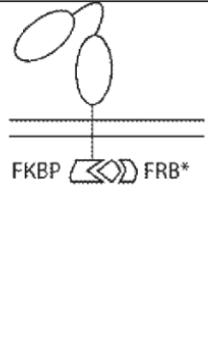
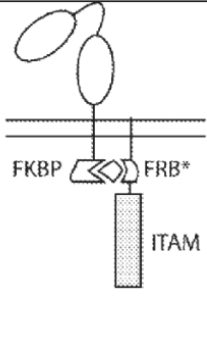
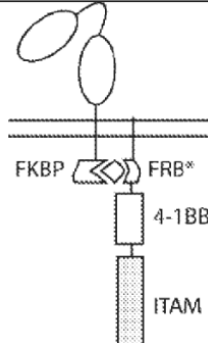
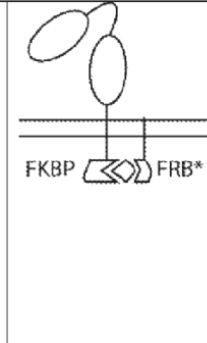
				
122 + 123	122 + 126	122 + 168	122 + 169	122 + 170
Induce una transcripción dependiente de NFAT modesta	Control "sin señalización" para "122 + 123"	Inducción de gen indicador dependiente de NFAT más fuerte que por "122+123" Baja producción de IL-2	Baja producción de IL-2	Control "sin señalización" para "122+168/169/206"

Figura 18B

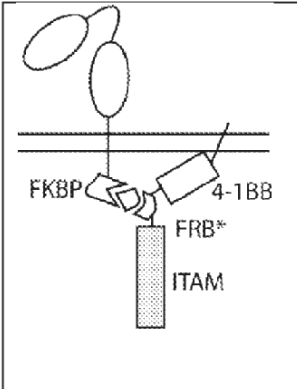
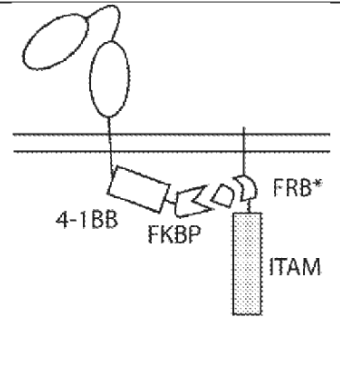
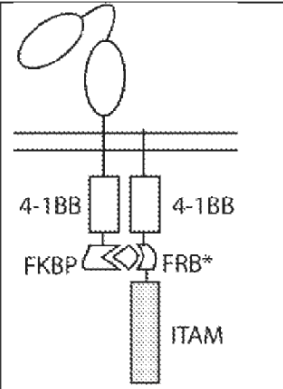
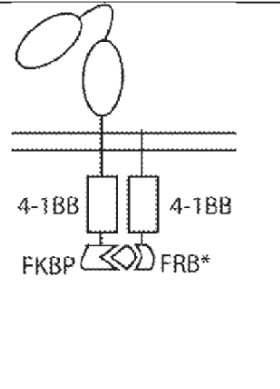
			
122 + 206	197 + 168	197 + 206	197 + 207
Fuerte inducción de gen indicador a través de NFAT; producción de IL-2 modesta.	Fuerte inducción de gen indicador a través de NFAT; producción de IL-2 modesta.	Fuerte producción de citocinas y citotoxicidad; función robusta en el centro activo.	Control "sin ITAM" para "197+ 168/206".

FIGURA 19A

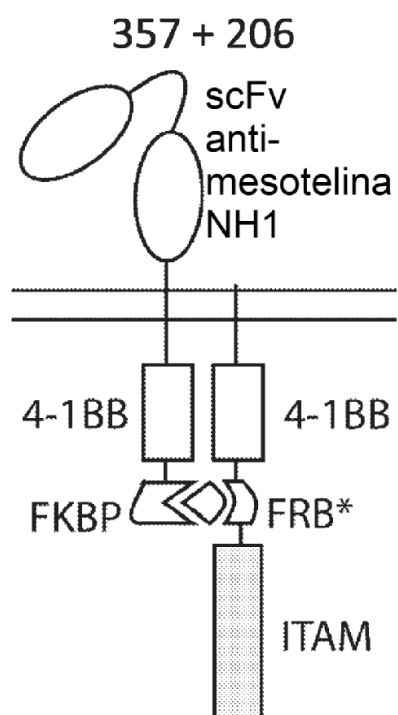


FIGURA 19B

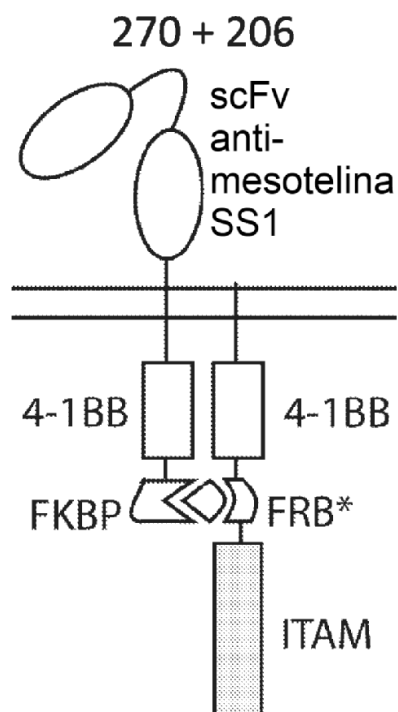


FIGURA 19C

300 + 206

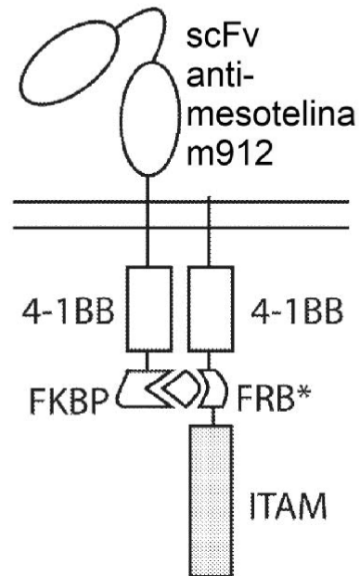


FIGURA 19D

**scFv HN1 (anti-mesotelina) convencional
y centros activos de CAR**

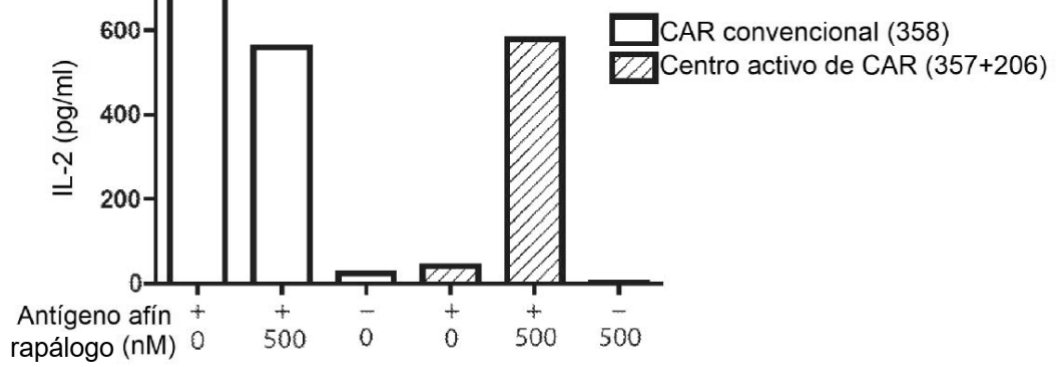


FIGURA 19E

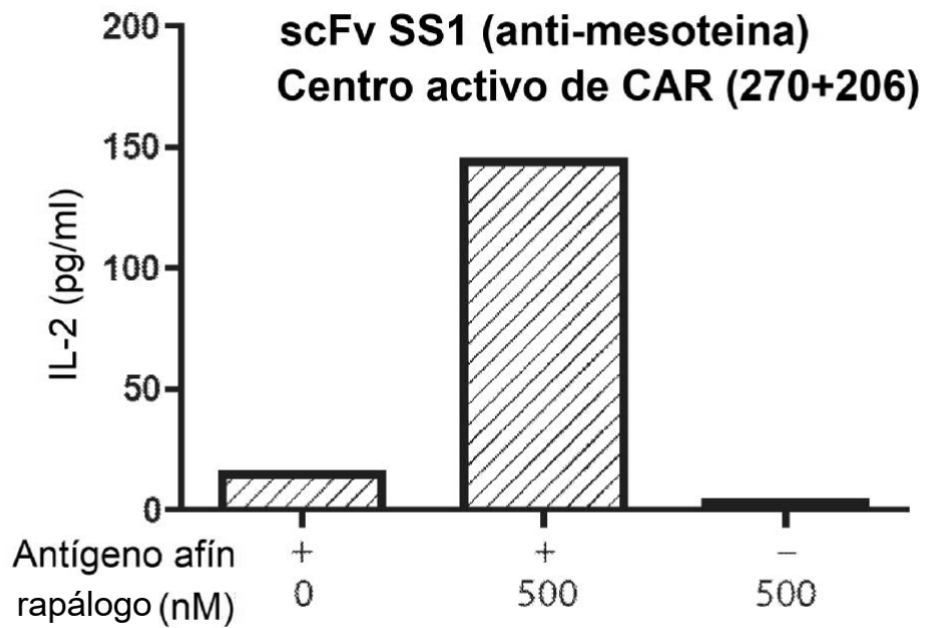


FIGURA 19F

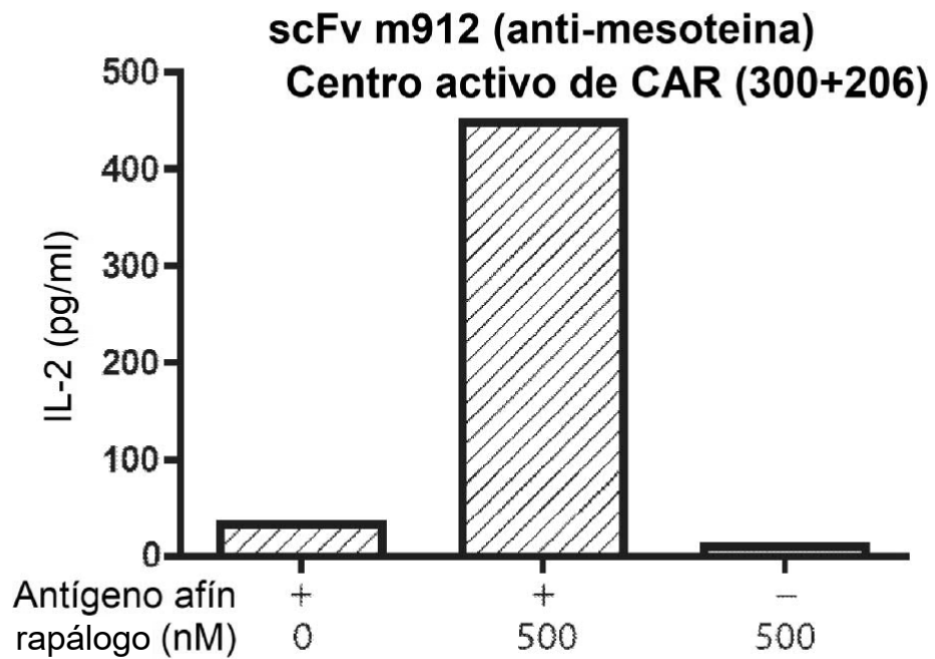


FIGURA 19G

358

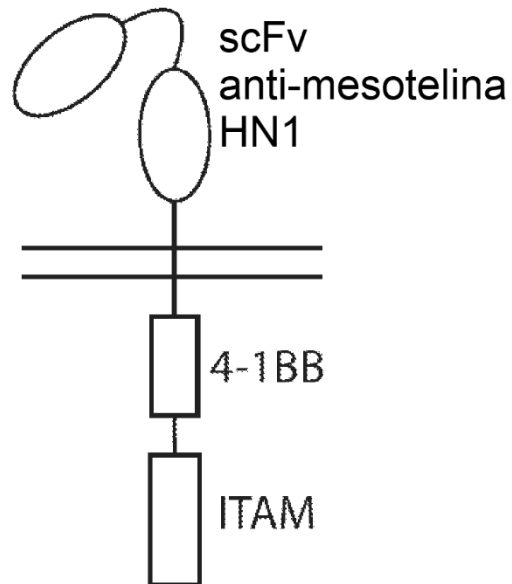


FIGURA 20A

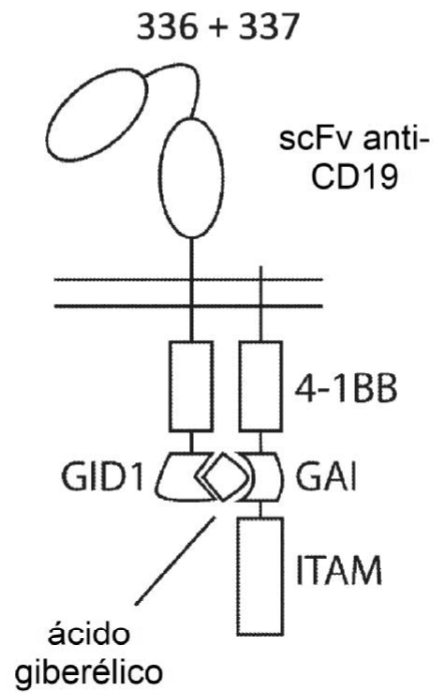


FIGURA 20B

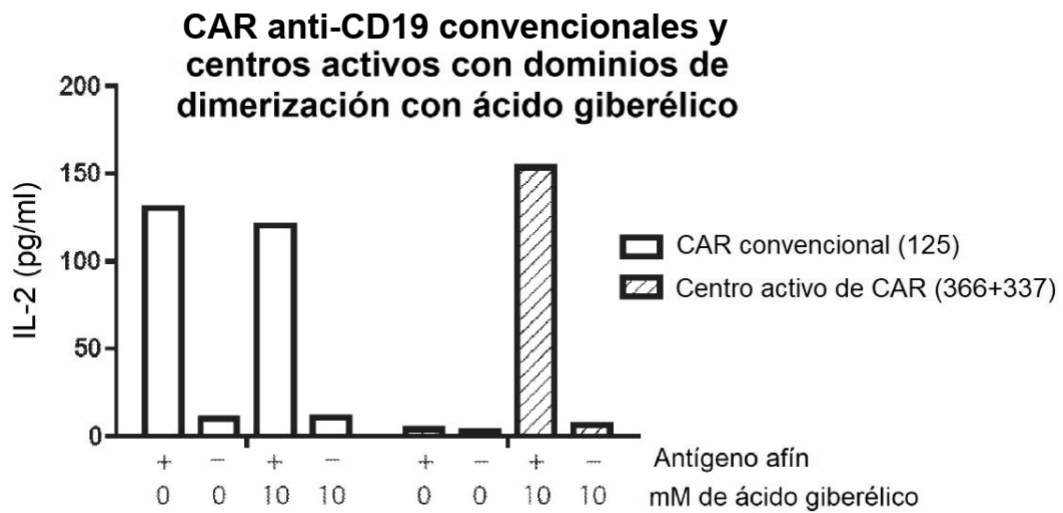


FIGURA 20C

125

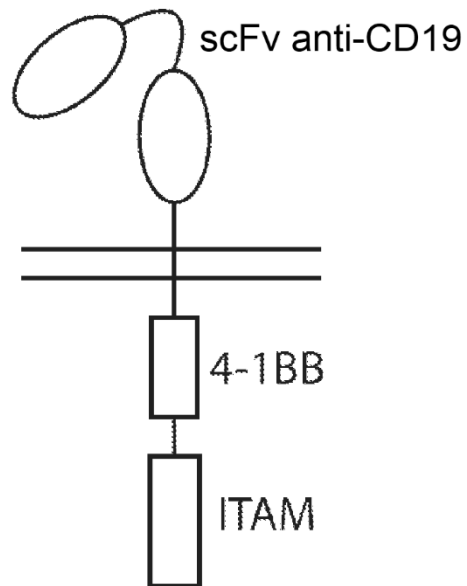


FIGURA 21A

365 + 367

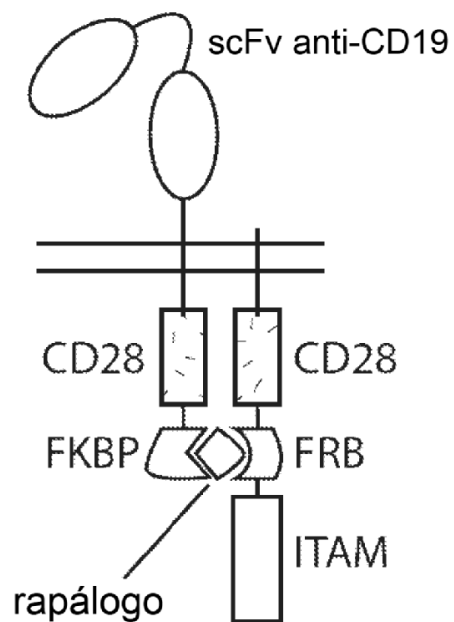


FIGURA 21B

399 + 400

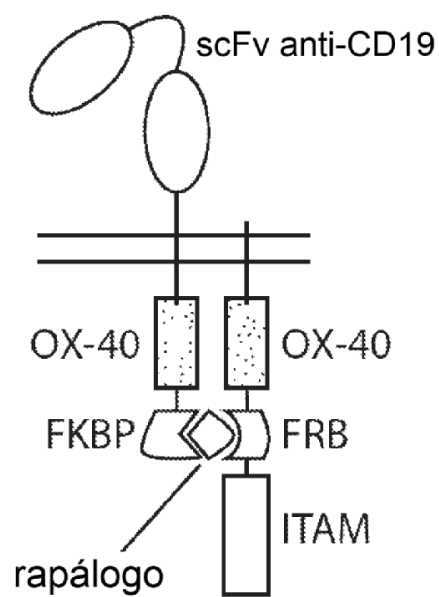


FIGURA 21C

366

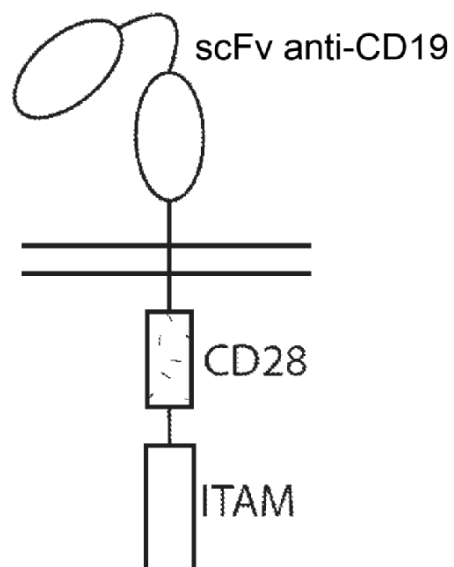
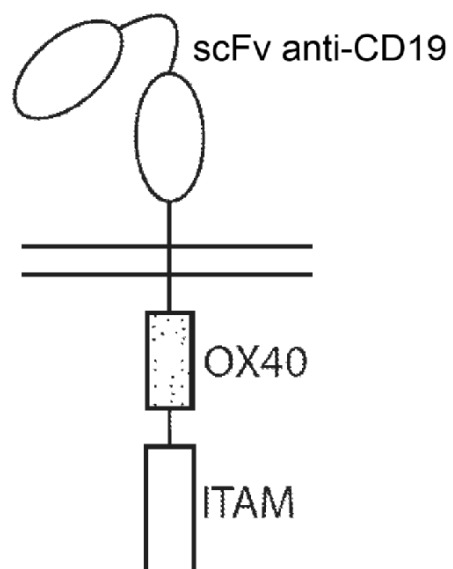


FIGURA 21D

398



Figuras 22A y 22B. Construcción n.º 270, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-mesotelina SS1 - bisagra y dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - FKBP"

Figura 22A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Flag:

GATTACAAGGATGACGATGACAAG (SEQ ID NO:132)

DYKDDDDK (SEQ ID NO:123)

scFv anti-mesotelina humana SS1:

GGATCCCAGGTACAACCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGAGAAGCCTGGCGCTTCAGTGAAGATATCCT
GCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACACCATGAACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCT
TGAGTGGATTGGACTTATTACTCCTTACAATGGTGCTTCTAGCTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAAGGCC
ACATTAACCTGTAGACAAGTCATCCAGCACAGCCTACATGGACCTCCTCAGTCTGACATCTGAAGACTCTG
CAGTCTATTTCTGTGCAAGGGGGGGTTACGACGGGAGGGGTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGT
CACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGCGGTGGCTCTAGCGGTGGcGGATCGGACATCGAGCTC
ACTCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAA
GTGTAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATC
CAAACCTGGCTTCTGGAGTCCCAGGTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACTCTTACTCTCTCACAATC
AGCAGCGTGGAGGCTGAAGATGATGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAAGCACCCCTCTCACGTACG
GTGCTGGGACAAAGTTGGAAATCAAAGCTAGC (SEQ ID NO:133)

GSQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGAS
SYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVS
SGGGGSGGGGSSGGGSDIELTQSPAISASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPK
RWIYDTSKSLASGVPGRFSGSGSNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSKHPLTYGAGTKLE
IKAS (SEQ ID NO:134)

Figura 22B

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCCGAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTA
SL

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (SEQ ID NO:11)

MGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKFDSSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDIYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:12)

Figura 23A y 23B. Construcción n.º 300, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-mesotelina m912 - bisagra y dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - FKBP"

Figura 23A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Flag:

GATTACAAGGATGACGATGACAAG (SEQ ID NO:132)

DYKDDDDK (SEQ ID NO:123)

scFv anti-mesotelina m912:

GGATCCCAGGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTCGTGAAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCT
GTACCGTGTCTGGCGGCTCTGTGTCCAGCGGCAGCTACTACTGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAA
GGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCTCCACCAACTACAACCCAGCCTGAAGTCCAGA
GTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGATA
CCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGAGGGCAAGAACGGCGCCTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACAAATGGT
CACCGTGTCTATCTGGTGGAGGAGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGGAGGCGGCGGATCTGATATTCAGATG
ACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACAATTACCTGCCGGGCCAGCCAGA
GCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAAGTCTGATCTACGCCGC
CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACC
ATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCTACAGCACCCCCCTGACCT
TTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO:135)

GSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGS
TNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGKNGAFDIWGQGTMTVTS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP
KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKV
EIK (SEQ ID NO:136)

Figura 23B

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGCGCGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTA
SL

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATCCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCTCTCCCGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAACTGGAA (SEQ ID NO:11)

MGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGKKFDSSRDNRNKPFFKFMKGQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:12)

Figura 24A y 24B. Construcción n.º 336, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-CD19 - bisagra y dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - GID1A"

Figura 24A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Myc:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATAACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTGAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTGCCAGCCTCCAC
GAAAGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAATGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIIYCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTV
SS (SEQ ID NO:6)

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGCGCAGCGCGGGGGCGCAGTGACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGCGCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTA

SL

Figura 24B

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

GID1A:

ATGGCTGCGAGCGATGAAGTTAATCTTATTGAGAGCAGAACAGTGGTTCCTCTCAATACATGGGTTTTAA
TATCCAACCTTCAAAGTAGCCTACAATATCCTTCGTCGCCCTGATGGAACCTTTAACCGACACTTAGCTGA
GTATCTAGACCGTAAAGTCACTGCAAACGCCAATCCGGTTGATGGGGTTTTCTCGTTCGATGTCTTGATT
GATCGCAGGATCAATCTTCTAAGCAGAGTCTATAGACCAGCTTATGCAGATCAAGAGCAACCTCCTAGTA
TTTTAGATCTCGAGAAGCCTGTTGATGGCGACATTGTCCCTGTTATATTGTTCTTCCATGGAGGTAGCTT
TGCTCATTCTTCTGCAAACAGTGCCATCTACGATACTCTTTGTGCGCAGGCTTGTGTTTGTGCAAGTGT
GTTGTTGTCTCTGTGAATTATCGGCGTGCACCAGAGAATCCATACCCTTGTGCTTATGATGATGGTTGGA
TTGCTCTTAATTGGGTTAACTCGAGATCTTGGCTTAAATCCAAGAAAGACTCAAAGGTCCATATTTTCTT
GGCTGGTGATAGCTCTGGAGGTAACATCGCGCATAATGTGGCTTTAAGAGCGGGTGAATCGGGAATCGAT
GTTTTGGGGAACATTCTGCTGAATCCTATGTTTGGTGGGAATGAGAGAACGGAGTCTGAGAAAAGTTTG
ATGGGAAATACTTTGTGACGGTTAGAGACCGGATTTGGTACTGGAAAGCGTTTTTACCCGAGGGAGAAGA
TAGAGAGCATCCAGCGTGTAATCCGTTTAGCCCGAGAGGGAAAAGCTTAGAAGGAGTGAGTTTCCCCAAG
AGTCTTGTGGTTGTCGCGGGTTTGGATTTGATTAGAGATTGGCAGTTGGCATAACGCGGAAGGGCTCAAGA
AAGCGGGTCAAGAGGTTAAGCTTATGCATTTAGAGAAAGCAACTGTTGGGTTTTACCTCTTGCCTAATAA
CAATCATTTCCATAATGTTATGGATGAGATTTTCGCGCTTTGTAAACGCGGAATGTATGCGTGAC (SEQ
ID NO:137)

MAASDEVNLIERSRTVVPLNTWVLISNFKVAYNILRRPDGTFNRHLAEYLDRKVTANANPV
DGVFSFDVLIDRRINLLSRVYRPAYADQEPPSILDLEKPVGDIVPVILFFHGGSFHHS
SANSIYDTLCRRLVGLCKCVVSVNYRRAPENPYPCAYDDGWIALNWNVNSRWLKSCKD
SKVHIFLAGDSSGGNIAHNVALRAGESGIDVLGNILLNPMFGGNERTESEKSLDGKYFVT
VRDRDWYWKAFLEPEDREHPACNPFSPRGKSLEGVSPKSLVVVAGLDLIRDWQLAYAE
GLKKAGQEVKLMHLEKATVGFYLLPNNNHFNVMDEISAFVNAECMRD (SEQ ID NO:138)

Figura 25A y 25B. Construcción n.º 337, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - GAI - cadena intracelular de CD3 zeta - mCherry"

Figura 25A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgcctttttaccctggcacttcaggctcttggtccggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAYFPGTSGSCSGCSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana de CD8 alfa humano:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACT
GC (SEQ ID NO:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO:30)

Enlazador:

Tctctg

SL

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)

GSGSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

Extremo N-terminal de GAI:

ATGAAGAGAGATCATCATCATCATCAAGATAAGAAGACTATGATGATGAATGAAGAAGACGACG
GTAACGGCATGGATGAGCTTCTAGCTGTTCTTGGTTACAAGGTTAGGTCATCCGAAATGGCTGATGTTGC
TCAGAACTCGAGCAGCTTGAAGTTATGATGTCTAATGTTCAAGAAGACGATCTTTCTCAACTCGCTACT
GAGACTGTTCACTATAATCCGGCGGAGCTTTACACGTGGCTTGATTCTATGCTCACCGACCTTAAT
(SEQ ID NO:139)

MKRDHHHHHHQDKKTMMNEEDDGNGMDELLAVLGKVRSSSEMADVAQKLEQLEVMMSNV
QEDDLSQLATETVHYNPAELYTWLDSMLTDLN (SEQ ID NO:140)

Figura 25B

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (SEQ ID
NO:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:18)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGVSNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID
NO:22)

Figura 26A y 26B. Construcción n.º 357, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-mesotelina HN1 - bisagra y dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 4-1BB - FKBP"

Figura 26A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Flag:

GATTACAAGGATGACGATGACAAG (SEQ ID NO:132)

DYKDDDDK (SEQ ID NO:123)

scFv anti-mesotelina humana HN1:

GGATCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAGACCAGGCGCCAGCGTGCAGGTCTCCT
GTAGAGCCAGCGGCTACAGCATCAACACCTACTACATGCAGTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCGCTGGACT
GGAATGGATGGGCGTGATCAACCCAGCGGCGTGACAAGCTACGCCCAGAAATTCAGGGCAGAGTGACC
CTGACCAACGACACCAGCACCAACACAGTGTACATGCAGCTGAACAGCCTGACCAGCGCCGACACCGCCG
TGTACTACTGTGCCAGATGGGCCCTGTGGGGCGACTTCGGCATGGATGTGTGGGGCAAGGGCACCCCTCGT
GACCGTGTCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGATCTGGAGGCGGCGGAAGCGACATCCAGATG
ACCCAGAGCCCTAGCACCCCTGAGCGCCAGCATCGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCGAGG
GCATCTATCACTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGC
CAGCTCTCTGGCCTCTGGCGCCCCTAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACA
ATCAGCAGCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTACAGCAACTACCCCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO:141)

GSQVQLVQSGAEVKRPGASVQVSCRASGYSINTYYMQWVRQAPGAGLEWMGVINPSGVTS
YAQKFQGRVTLTNDTSTNTVYMQNLSTLSADTAVYYCARWALWGDFGMDVWGKTLVTVS
SGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASEGIYHWLAWYQKPKGKAP
KLLIYKASSLASGAPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDEFATYYCQYYSNYPLTFGGGTKL
EIK (SEQ ID NO:142)

Figura 26B

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTA
SL

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (SEQ ID NO:11)

MGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLLEDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:12)

Figura 27A y 27B. Construcción n.º 365, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-CD19 - bisagra de CD8 alfa - dominio transmembrana y cadena intracelular de CD28 - FKBP"

Figura 27A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Myc:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAGCTGGATTTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAGTATGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDETAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSTVTV
SS (SEQ ID NO:6)

Figura 27B

Espaciador extracelular/bisagra de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGCGCAGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT (SEQ
ID NO:143)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (SEQ ID NO:56)

Dominio transmembrana y cadena de señalización intracelular de CD28 humano:

TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTA
TTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCC
CGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC (SEQ
ID NO:144)

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPP
RDFAAYRS (SEQ ID NO:121)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGTTGCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (SEQ ID NO:11)

MGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKFDSSRDNRNKPFFKMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:12)

Figura 28A y 28B. Construcción n.º 366, que codifica un polipéptido que comprende un CAR convencional "scFv anti-CD19 - bisagra de CD8 alfa - dominio transmembrana y cadena intracelular de CD28 - cadena intracelular de CD3 zeta"

Figura 28A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Myc:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACATCAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNLTPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSTVTV
SS (SEQ ID NO:6)

Figura 28B

Espaciador extracelular/bisagra de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT (SEQ
ID NO:143)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (SEQ ID NO:56)

Dominio transmembrana y cadena intracelular de CD28 humano:

TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTA
TTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCC
CGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC (SEQ
ID NO:144)

FWVLVVGGVLAACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPP
RDFAAYRS (SEQ ID NO:121)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCTCCTCGC (SEQ ID
NO:25)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:26)

Figura 29A y 29B. Construcción n.º 367, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana y cadena intracelular de CD28 - FRB - cadena intracelular de CD3 zeta - mCherry"

Figura 29A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgggtcacatcctcttctctgcttttgctcccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcaactccctgcctttttaccctggcacttcaggctcttggtccggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana y cadena de señalización intracelular de CD28 humano:

TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTA
TTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCC
CGGGCCCAACCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC (SEQ
ID NO:144)

FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNTPRRPGPTRKHYQPYAPP
RDFAAYRS (SEQ ID NO:121)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)
GSGSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCGATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(SEQ ID NO:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLME
AQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (SEQ ID NO:34)

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)
GSGSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Figura 29B

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (SEQ ID
NO:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:18)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)
SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID
NO:22)

Figura 30A y 30B. Construcción n.º 398, que codifica un polipéptido que comprende un CAR convencional "scFv anti-CD19 - dominio bisagra y transmembrana de CD8 alfa - cadenas intracelulares de OX40 y CD3"

Figura 30A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitépica Myc:

GAGCAGAAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTG
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAACACATACTATAATTAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAATGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGGSGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWGSSETTY
YNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTV
SS (SEQ ID NO:6)

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCCGCCAGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Enlazador:

TCCCTA
SL

Figura 30B

Cadena intracelular de 0X40 humano:

CGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCGATGCCCCACAAGCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGACCCCCATCC
AAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCAAGATC (SEQ ID NO:145)

RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO:65)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCTCCTCGC (SEQ ID
NO:25)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNEINLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:26)

Figura 31A y 31B. Construcción n.º 399, que codifica un polipéptido que comprende "scFv anti-CD19 - bisagra y dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 0X40 - FKBP"

Figura 31A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Myc:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (SEQ ID NO:3)

EQKLISEEDL (SEQ ID NO:4)

ScFv anti-CD19 humano:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:5)

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRSLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCAKHHYYGGSYAMDYWGQGTSTVTV
SS (SEQ ID NO:6)

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGCGCAGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Figura 31B

Enlazador:

TCCCTA

SL

Cadena intracelular de 0X40 humano:

CGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCGATGCCCACAAGCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGACCCCCATCC
AAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCAAGATC (SEQ ID NO:145)

RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO:65)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (SEQ ID NO:11)

MGVQVETISPGDGRTFPPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFFKFMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO:12)

Figura 32A y 32B. Construcción n.º 400, que codifica un polipéptido que comprende "dominio extracelular de DAP10 - dominio transmembrana de CD8 alfa - cadena intracelular de 0X40 - FRB - cadena intracelular de CD3 zeta - mCherry"

Figura 32A

Secuencia de señal y dominio extracelular de DAP10 humano:

Atgatccatctgggtcacatcctcttctctgcttttgctcccagtggtgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttggtccggatgtgggtccctctctct
gccg (SEQ ID NO:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLP AFYPGTSGSCSGCSLSLP (SEQ ID NO:28)

Dominio transmembrana de CD8 alfa humano:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACT
GC (SEQ ID NO:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO:30)

Enlazador:

Tctctg
SL

Cadena intracelular de 0X40 humano:

CGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCGATGCCACAAAGCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGACCCCATCC
AAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCAAGATC (SEQ ID NO:145)

RRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO:65)

Enlazador:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:31)
GSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(SEQ ID NO:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLME
AQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK (SEQ ID NO:34)

Figura 32B

Enlazador:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (SEQ ID NO:15)

GS GSGSGSSL (SEQ ID NO:16)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (SEQ ID
NO:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:18)

Enlazador:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (SEQ ID NO:19)

SRGSGSGSGS (SEQ ID NO:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCCGGCGCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTAACAAG (SEQ ID NO:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTGKGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (SEQ ID
NO:22)

Figura 33A y 33B. Construcción n.º 358, que codifica un polipéptido que comprende un CAR convencional "scFv anti-mesotelina HN1 - dominio bisagra y transmembrana de CD8 alfa - cadenas intracelulares de 4-1BB y CD3"

Figura 33A

Péptido de señal:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (SEQ ID NO:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2)

Etiqueta epitópica Flag:

GATTACAAGGATGACGATGACAAG (SEQ ID NO:132)

DYKDDDDK (SEQ ID NO:123)

scFv anti-mesotelina humana HN1:

GGATCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAGACCAGGCGCCAGCGTGCAGGTCTCCT
GTAGAGCCAGCGGCTACAGCATCAACACCTACTACATGCAGTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCGCTGGACT
GGAATGGATGGGCGTGATCAACCCAGCGGCGTGACAAGCTACGCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACC
CTGACCAACGACACCAGCACCAACACAGTGTACATGCAGCTGAACAGCCTGACCAGCGCCGACACCGCCG
TGTACTACTGTGCCAGATGGGCCCTGTGGGGCGACTTCGGCATGGATGTGTGGGGCAAGGGCACCTCGT
GACCGTGTCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGATCTGGAGGCGGCGGAAGCGACATCCAGATG
ACCCAGAGCCCTAGCACCTTGAGCGCCAGCATCGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCCAGCGAGG
GCATCTATCACTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGC
CAGCTCTCTGGCCTCTGGCGCCCTAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCCTGACA
ATCAGCAGCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTACAGCAACTACCCCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO:141)

GSQVQLVQSGAEVKRPGASVQVSCRASGYSINTYYMQWVRQAPGAGLEWMGVINPSGVTS
YAQKFQGRVTLTNDTSTNTVYMQNLNLSADTAVYYCARWALWGDFGMDVWGKGLTVTS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASIGDRVITTCRASEGIYHWLAWYQQKPGKAP
KLLIYKASSLASGAPSRFSGSGSTDFLTITSLQPDFFATYYCQQYSNYPLTFGGGTKL
EIK (SEQ ID NO:142)

Dominio espaciador extracelular/bisagra y transmembrana de CD8 alfa humano:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGACACGAGGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGC
(SEQ ID NO:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (SEQ ID NO:8)

Figura 33B

Enlazador:

TCCCTA

SL

Cadena intracelular de 4-1BB humano:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (SEQ ID
NO:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL (SEQ ID NO:24)

Cadena intracelular de CD3 zeta humano:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCTCCTCGC (SEQ ID
NO:25)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:26)