

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 931**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/73** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.09.2013 PCT/US2013/059608**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.03.2014 WO14043441**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2013 E 13767200 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 2895509**

54 Título: **Receptores de linfocitos t que reconocen MAGE-A3 restringida al MHC de clase II**

30 Prioridad:

**14.09.2012 US 201261701056 P**

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

**23.07.2020**

73 Titular/es:

**THE U.S.A. AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (100.0%)  
Office of Technology Transfer, National Institutes of Health, 6011 Executive Boulevard, Suite 325, MSC 7660  
Bethesda, MD 20892-7660, US**

72 Inventor/es:

**ROBBINS, PAUL F.;  
ROSENBERG, STEVEN A. y  
YAO, XIN**

74 Agente/Representante:

**MILTENYI , Peter**

**Observaciones:**

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

ES 2 774 931 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**

Receptores de linfocitos t que reconocen MAGE-A3 restringida al MHC de clase II

**5 Referencia cruzada a la solicitud relacionada**

La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de EE.UU. N.º 61/701.056, presentada el 14 de septiembre de 2012.

**10 INCORPORACIÓN POR REFERENCIA DE MATERIAL ENVIADO POR VÍA ELECTRÓNICA****Antecedentes de la invención**

15 La terapia celular adoptiva (Adoptive Cell Therapy, ACT) implica la transferencia de linfocitos T reactivos en los pacientes, incluyendo la transferencia de los linfocitos T reactivos a tumores en los pacientes con cáncer. Una terapia celular adoptiva usando linfocitos T que se dirige a los epítomos de linfocitos T restringidos al antígeno leucocitario humano (Human Leukocyte Antigen, HLA)-A\*02 ha sido exitosa al causar la regresión de los tumores en algunos pacientes. Sin embargo, los pacientes que carecen de la expresión de HLA-A\*02 no pueden ser tratados con linfocitos T que se dirigen a los epítomos de linfocitos T restringidos al HLA-A\*02. Dicha limitación crea un  
20 obstáculo para la aplicación extendida de la terapia celular adoptiva. Por consiguiente, existe una necesidad de composiciones inmunológicas mejoradas y de métodos para tratar el cáncer.

**Breve resumen de la invención**

25 La invención proporciona las siguientes realizaciones tal como se define con los puntos 1-18.

1. Un receptor de linfocitos T (TCR, por sus siglas en inglés) aislado o purificado que comprende: (a) las SEQ ID NO: 3-8 o (b) una variante funcional de (a), en donde el TCR de (a) y la variante funcional de (b) se unen de manera específica a MAGE A3 que se presenta por HLA-DPβ1\*04 y (ii) MAGE-A6, en donde la variante funcional  
30 comprende:

(I) las SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8, y 29, en donde: (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29; (2) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29; (3) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Ala en la SEQ ID NO: 29; o (4) Xaa en  
35 4 es Val, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29; o

(II) las SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 y 30 en donde: (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Thr, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30; o (2) Xaa en 4 es Arg, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30,  
40 preferentemente en donde la variante funcional comprende

(a) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ala, Xaa5 es Ser, Xaa6 es Gly y Xaa7 es Thr, o  
45 (b) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Xaa5 es Ala, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr.

2. El TCR aislado o purificado o la variante funcional de acuerdo con el punto 1 que comprende una región constante de murino, preferentemente que comprende una región constante de murino que comprende la SEQ ID NO: 25 y/o la SEQ ID NO: 26.

3. El TCR aislado o purificado o la variante funcional de acuerdo con el punto 1 o 2, que comprende las secuencias de aminoácidos de:

50 (a) las SEQ ID NO: 9 y 10;  
(b) las SEQ ID NO: 10 y 31, en donde:

(1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
55 (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
(3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 31; o  
(4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31; o

(c) las SEQ ID NO: 9 y 31, en donde:

60 (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32; o  
(2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32,  
Preferentemente que comprende (a) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o (b) SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119  
65 es Thr.

## ES 2 774 931 T3

4. El TCR aislado o purificado o la variante funcional de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1-3, que comprende:

- 5 (a) las SEQ ID NO: 11 y 12;  
(b) las SEQ ID NO: 27 y 28;  
(c) las SEQ ID NO: 12 y 33, en donde:

- 10 (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
(2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
(3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 33; o  
(4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33; o

(d) las SEQ ID NO: 11 y 34, en donde:

- 15 (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34; o  
(2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34, preferentemente que comprende (a) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr o (b) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

20 5. Un polipéptido aislado o purificado que comprende una porción funcional del TCR o la variante funcional de cualquiera de los puntos 1-4, en donde la porción funcional se une de manera específica a (i) MAGE A3 que es presentada por HLA-DPβ1\*04 y (ii) MAGE-A6 y en donde la porción funcional comprende

25 (a) las SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8 y 29, en donde:

- (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
(2) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
(3) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Ala en la SEQ ID NO: 29;  
o  
(4) Xaa en 4 es Val, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;

(b) las SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 y 30, en donde:

- 35 (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Thr, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30;  
o  
(2) Xaa en 4 es Arg, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30; o

(c) las SEQ ID NO: 3-8,

40 en donde preferentemente la porción funcional comprende (a) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ala, Xaa5 es Ser, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr, o (b) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Xaa5 es Ala, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr.

6. El polipéptido aislado o purificado del punto 5, en donde la porción comprende:

- 45 (a) las SEQ ID NO: 9 y 10;  
(b) las SEQ ID NO: 10 y 31, en donde:

- 50 (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
(2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
(3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 31; o  
(4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31; o

(c) las SEQ ID NO: 9 y 32, en donde:

- 55 (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32; o  
(2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32, Preferentemente en donde la porción comprende (a) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o (b) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

7. El polipéptido aislado o purificado del punto 5, en donde la porción comprende:

- 65 (a) las SEQ ID NO: 11 y 12;  
(b) las SEQ ID NO: 27 y 28;  
(c) las SEQ ID NO: 12 y 33, en donde:

- (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
 (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
 (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 33; o  
 5 (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33; o
- (d) las SEQ ID NO: 11 y 34, en donde:
- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34; o  
 10 (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34, preferentemente en donde la porción comprende (a) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly y Xaa119 es Thr, o (b) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.
- 15 8. Una proteína aislada o purificada que se une de manera específica a (I) MAGE A3 que es presentada por HLA-DPβ1\*04 y (II) MAGE-A6, en donde la proteína aislada o purificada comprende:
- (a) una primera cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-5 y una segunda cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6-8;  
 20 (b) una primera cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 4 y 29, y una segunda cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6-8, en donde:
- (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
 25 (2) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
 (3) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Ala en la SEQ ID NO: 29;  
 o  
 (4) Xaa en 4 es Val, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
 o
- 30 (c) una primera cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-5 y una segunda cadena de polipéptidos que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 30, en donde:
- (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Thr, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30; o  
 35 (2) Xaa en 4 es Arg, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30, preferentemente en donde la proteína aislada o purificada es una proteína de fusión y/o un anticuerpo recombinante.
- 40 9. La proteína aislada o purificada del punto 8, en donde la primera cadena de polipéptido comprende
- (a) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ala, Xaa5 es Ser, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr, o  
 (b) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Xaa5 es Ala, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr.
- 45 10. La proteína aislada o purificada de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 8-9, que comprende:
- (a) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10;  
 50 (b) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, en donde:
- (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
 (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 31;  
 (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 31; o  
 55 (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31; o
- (c) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32, en donde:
- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32; o  
 60 (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32, preferentemente en donde la primera cadena de polipéptido comprende (a) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o (b) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.
- 65 11. La proteína aislada o purificada de acuerdo con el punto 8 o 9, que comprende:

- (a) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12;
- (b) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28;
- (c) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, en donde:
- (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;
- (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;
- (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 33; o
- (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33; o
- (d) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34, en donde:
- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34; o
- (2) Xaa en 115 es ARg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34, preferentemente en donde la primera cadena de polipéptido comprende (a) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o (b) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.
12. Un ácido nucleico aislado o purificado que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica el TCR o una variante funcional de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1-4, el polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 5-7, o la proteína aislada o purificada de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 8-11, preferentemente en donde la secuencia de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en a) las SEQ ID NO: 37 y 38, b) las SEQ ID NO: 41 y 42, y c) las SEQ ID NO: 43 y 44.
13. Un vector de expresión recombinante que comprende el ácido nucleico de acuerdo con el punto 12.
14. Una célula hospedadora aislada que comprende el vector de expresión recombinante del punto 13, preferentemente en donde la célula es humana.
15. Una población de células que comprende al menos una célula hospedadora del punto 14.
16. Una composición farmacéutica que comprende el TCR o la variante funcional de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1-4, el polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 5-7, la proteína aislada o purificada de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 8-11, el ácido nucleico del punto 12, el vector de expresión recombinante del punto 13, la célula hospedadora del punto 14, o la población de células del punto 15, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
17. Un método de detección de la presencia de cáncer en un mamífero, que comprende: (a) poner en contacto una muestra que comprende una o más células del mamífero con el TCR o la variante funcional de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1-4, el polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 5-7, la proteína aislada o purificada de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 8-11, el ácido nucleico del punto 12, el vector de expresión recombinante del punto 13, la célula hospedadora del punto 14, la población de células del punto 15, o la composición farmacéutica del punto 16, formando de este modo un complejo, y (b) la detección del complejo, en donde la detección del complejo es indicativa de la presencia de cáncer en el mamífero, en donde preferentemente el cáncer es melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, sarcoma de células sinoviales, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago o cáncer de ovario.
18. El TCR o la variante funcional de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1-4, el polipéptido de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 5-7, la proteína aislada o purificada de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 8-11, el ácido nucleico del punto 12, el vector de expresión recombinante del punto 13, la célula hospedadora del punto 14, la población de células del punto 15, o la composición farmacéutica del punto 16, para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer en un mamífero, preferentemente en donde el cáncer es melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, sarcoma de células sinoviales, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago o cáncer de ovario.
- En el presente documento se desvela un receptor de linfocitos T (T-Cell Receptor, TCR) purificado y porciones funcionales y variantes celulares del mismo, que tiene especificidad antigénica para MAGE-A3<sub>243-258</sub> y MAGE-A6.
- En el presente documento se desvela además un TCR purificado o aislado comprendiendo (a) las SEQ ID NO: 3-8 o (b) las SEQ ID NO: 21-22, o una variante funcional de (a) o (b), en donde la variante funcional comprende (a) o (b) con al menos una sustitución del aminoácido en cualquiera de uno o más de (a) o cualquiera de uno o más de (b), y la variante funcional tiene la especificidad antigénica para MAGE-A3 en el contexto de HLA-DPβ1\*04.

En el presente documento se desvelan polipéptidos y proteínas, así como ácidos nucleicos relacionados, vectores de expresión recombinantes, células hospedadoras y poblaciones de células. Además, se proporcionan anticuerpos o porciones de unión al antígeno de los mismos y composiciones farmacéuticas relacionadas con los TCR (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos).

En el presente documento se describe además el uso para detectar la presencia del cáncer en un mamífero y los métodos para tratar o prevenir el cáncer en un mamífero. El uso para detectar la presencia de cáncer en un mamífero comprende (i) poner en contacto una muestra que comprende células del cáncer con cualquiera de los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales del mismo), polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinante, células hospedadoras, poblaciones de células hospedadoras o anticuerpos o porciones de unión al antígeno de los mismos, descritos en el presente documento, en consecuencia formando un complejo; y (ii) detectar el complejo, en donde la detección del complejo es indicativo de la presencia de cáncer en el mamífero.

En el presente documento se describe el uso para tratar o prevenir el cáncer en un mamífero de los TCR (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, o proteínas descritos en el presente documento, cualquier ácido nucleico o vector de expresión recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de los TCR (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, proteínas descritos en el presente documento o cualquier célula hospedadora o población de células hospedadoras que comprenden un vector recombinante el cual codifica cualquiera de los TCR (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos o proteínas descritas en el presente documento, en una cantidad eficaz para tratar o prevenir el cáncer en el mamífero.

#### **Breve descripción de las diversas vistas de los dibujos**

Las Figuras 1A y 1B son gráficos de barras que muestran la secreción de interferón (IFN)-gamma (pg/ml) por los linfocitos T CD4+ de los primeros (1A) y segundos (1B) donadores en respuesta al cocultivo con las células diana 293-CIITA no transfectadas (292-CIITA) o transfectadas con la proteína de longitud completa NY-ESO-1 (293-CIITA-NY-ESO-1), la proteína MAGE-A1 (293-CIITA-MAGE A1), la proteína MAGE-A3 (293-CIITA-MAGE-A3), la proteína MAGE-A6 (293-CIITA-MAGE-A6), o la proteína MAGE A12 (293-CIITA-MAGE-A12). Los linfocitos T fueron no transducidos (UT) o transducidos con F5 (anti-MART-1) TCR, R12C9 TCR, o 6F9 TCR.

La Figura 2A es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por los linfocitos T de un donador humano que fueron transducidos o no transducidos con 6F9 TCR o F5 TCR en respuesta al cocultivo con las células 526-CIITA que no fueron tratadas o fueron tratadas con anti-ARNip MAGE-A3 o anti-ARNip MART-1.

La Figura 2B es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por los linfocitos T CD4+ de un donador humano que fueron transducidos o no transducidos con 6F9 TCR en respuesta a un cocultivo con células H1299-CIITA que fueron no tratadas o tratadas con anti-ARNip MAGE-A3 o anti-ARNip MART-1.

La Figura 3 es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por PBL transducido con 6F9 cultivado solo (solamente linfocitos T) o cocultivado con las células 3071, las células 3071-CIITA, las células 397, las células 397-CIITA, las células 2630, las células 2630-CIITA, las células 2984 o las células 2984-CIITA.

La Figura 4 es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por PBL CD4+ enriquecidos que se transdujo con 6F9 TCR o no se transdujo en el cultivo solo (solamente linfocitos T) o en respuesta al cocultivo con las células H1299-CIITA no tratadas, H1299-CIITA transfectadas con anti-HLA-DP o anti-ARNip HLA-DR, células no tratadas 526-CIITA o 526-CIITA transfectadas con anti-HLA-DP o anti-ARNip HLA-DR.

La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por PBL que no se transdujo o que se transdujo con 6F9 TCR de tipo silvestre (ts) o uno de cada uno de los ocho TCR sustituidos: a1 (cadena alfa S116A), a2 (cadena alfa S117A), a3 (cadena alfa G118A), a4 (cadena alfa T119A), b1 (cadena beta R115A), b2 (cadena beta T116A), b3 (cadena beta G117A), o b4 (cadena beta P118A) en los cultivos solos (solamente linfocitos T; barras no sombreadas) o el cocultivo con 624-CIITA (barras de cuadros), 526-CIITA (barras rayadas a la derecha), 1359-CIITA (barras con líneas horizontales), H1299-CIITA (barras rayadas a la izquierda), o 1764-CIITA (barras con líneas verticales).

La Figura 6 es un gráfico de barras que muestra la secreción IFN-gamma (pg/ml) por PBL CD4+ enriquecido que no se transdujeron o se transdujeron con 6F9 TCR de tipo silvestre (ts) o uno de cada uno de los tres TCR sustituidos: a1 (cadena alfa S116A), a2 (cadena alfa S117A), o b2 (cadena beta T116A) en el cultivo solo (solamente linfocitos T; barras no sombreadas) o cocultivado con 624-CIITA (barras de cuadros), 526-CIITA (barras rayadas a la derecha), 1359-CIITA (barras con líneas horizontales), H1299-CIITA (barras rayadas a la izquierda), o 1764-CIITA (barras con líneas verticales).

La Figura 7 es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por PBL que se transdujo o no

se transdujo con 6F9 TCR de tipo silvestre (ts) o uno de cada diez de los TCR sustituidos: a1 (cadena alfa S116A), a2 (cadena alfa S117A), a1-1 (cadena alfa S116L), a1-2 (cadena alfa S116I), a1-3 (cadena alfa S116V), a1-4 (cadena alfa S116M), a2-1 (cadena alfa S117L), a2-2 (cadena alfa S117I), a2-3 (cadena alfa S117V), o a2-4 (cadena alfa S117M) en el cultivo solo (solamente linfocitos T; barras no sombreadas) o cocultivado con 624-CIITA (barras rayadas a la derecha), 526-CIITA (barras con líneas verticales), 1359-CIITA (barras con líneas horizontales), H1299-CIITA (barras entrecruzadas a la izquierda), o 1764-CIITA (barras negras).

La Figura 8 es una gráfica de barras que muestran la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por PBL que no se transduce (barras a cuadros) o se transduce con 6F9 TCR de tipo silvestre (ts) (barras con líneas horizontales) o 6F9mC TCR (SEQ ID NO: 27 y 28) (barras entrecruzadas a la izquierda) en el cultivo solo (solamente linfocitos T) o cocultivado con las células 624-CIITA, 1300-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, o 1764-CIITA.

Las Figuras 9A y 9B son gráficos de barras que muestran la secreción de IFN-gamma (pg/ml) por PBL CD4+ (9A) o CD8+ (9B) enriquecida que no se transdujo (barras a cuadros) o que se transdujo con 6F9 TCR de tipo silvestre (ts) (barra con líneas horizontales) o 6F9mC TCR (SEQ ID NO: 27 y 28) (barras entrecruzadas a la izquierda) en el cultivo solo (solamente linfocitos T) o cocultivo con células 624-CIITA, SK37-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, o 1764-CIITA.

La Figura 10A es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma (pf/ml) por PBL que no se transduce (untransducido: UT; barras no sombreadas) o transducido con R12C9 TCR (barras grises) o 6F9 TCR (barras negras) en el cultivo solo (ninguno) o cocultivado con los transfectantes 293-CIITA que se transfectaron con la proteína NY-ESO-1 de longitud completa, proteína MAGE-A1, proteína MAGE-A3, proteína MAGE-A6, proteína MAGE-A12, o células 293-CIITA que se pulsaron con el péptido MAGE-A3<sub>243-258</sub> o la proteína MAGE-A3.

La Figura 10B es una gráfica de barras mostrando la secreción de IFN-gamma (pf/ml) por PBL que no se transduce (barras negras, UT) o transducido con 6F9 TCR (barras grises) en el cultivo solo (solamente linfocitos T) o cocultivado con la línea celular H11299 del cáncer de pulmón de células no pequeñas (Non-Small Cell Lung Cancer: NSCLC) o la línea celular del melanoma 526 mel, 624 mel, o 1359 mel.

### Descripción detallada de la invención

En el presente documento se desvela un receptor de linfocitos T (TCR) aislado o purificado y porciones funcionales y variantes funcionales del mismo que tienen especificidad para MAGE-A3, en donde el TCR reconoce el MAGE-A3 en el contexto de HLA-DPβ1\*04. El TCR aislado o purificado desvelado en el presente documento puede tener especificidad antigénica para MAGE-A3<sub>243-258</sub> y MAGE-A6.

MAGE-A3 y MAGE-A6 son miembros de la familia MAGE-A de doce proteínas homólogas, también incluyendo MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, y MAGE-A12. Las proteínas MAGE-A son antígenos del cáncer de testículos (Cancer Testis Antigens, CTA), los cuáles se expresan solamente en las células tumorales y en las células germinales del testículo y la placenta que no expresan MHC. Las proteínas MAGE-A se expresan en una variedad de cánceres en humanos incluyendo pero no limitados a, melanoma, cáncer de mama, leucemia, cáncer de tiroides, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cáncer de pulmón (por ejemplo, carcinoma de pulmón no microcítico), cáncer de ovario, mieloma múltiple, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cáncer en la cabeza (por ejemplo, carcinoma celular escamoso), cánceres de cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cáncer de próstata, sarcoma de la célula sinovial y cáncer urotelial.

Los TCR (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) de la invención proporcionan muchas ventajas, incluyendo cuando se usan para la transferencia de células adoptivas. Por ejemplo, mediante la señalización de MAGE-A3 que se presenta en el contexto de HLA-DPβ1\*04, los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) hacen posible tratar a los pacientes que no son capaces de ser tratados usando los TCR que se dirigen a los antígenos MAGE que están presentes en el contexto de otras moléculas de HLA, por ejemplo, HLA-A\*02, HLA-A\*01, o HLA-C\*07. HLA-DPβ1\*04 es un alelo altamente prevalente que se expresa desde aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 80 % de la población de pacientes con cáncer. Por consiguiente, los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) ventajosamente se expanden grandemente a la población de pacientes que pueden tratarse. Adicionalmente, sin apegarse a una teoría particular, se cree que porque MAGE-A3 y MAGE-A6 se expresan por las células de múltiples tipos de cáncer, los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) ventajosamente proporcionan la habilidad de destruir las células de múltiples tipos de cáncer y por consiguiente tratar o prevenir los múltiples tipos de cáncer. Adicionalmente, sin apegarse a una teoría particular, se cree que debido a que las proteínas MAGE-A son antígenos del cáncer testicular que se expresan solamente en las células tumorales y en células germinales de los testículos y la placenta que no expresan el MHC, los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) ventajosamente dirigen la destrucción de las células tumorales mientras minimizan o eliminan la destrucción de las células no cancerosas normales, por lo tanto reduciendo por ejemplo, mediante minimización o

eliminación, la toxicidad.

La frase “especificidad antigénica” como se usa en el presente documento significa que el TCR puede unirse específicamente a y reconocer inmunológicamente la MAGE-A3 y/o MAGE-A6 con alta avidéz. Por ejemplo, un TCR puede considerarse que tiene “especificidad antigénica” para MAGE-A3 y/o MAGE-A6 si los linfocitos T que expresan TCR secretan al menos 200 pg/ml o más (por ejemplo, 200 pg/ml o más, 300 pg/ml o más, 400 pg/ml o más, 500 pg/ml o más, 600 pg/ml o más, 700 pg/ml o más, 1000 pg/ml o más, 5.000 pg/ml o más, 7.000 pg/ml o más, 10.000 pg/ml o más, o 20.000 pg/ml o más) de IFN- $\gamma$  en el cocultivo con las células diana HLA-DP $\beta$ 1\*04+ negativas de antígeno pulsadas con una baja concentración del péptido MAGE-A3 y/o MAGE-A6 (por ejemplo, aproximadamente 0,05 ng/ml a aproximadamente 5 ng/ml, 0,05 ng/ml, 0,1 ng/ml, 0,5 ng/ml, 1 ng/ml, o 5 ng/ml). Como alternativa o adicionalmente, un TCR puede considerarse que tiene “especificidad antigénica” para MAGE-A3 y/o MAGE-A6 si los linfocitos T que expresan el TCR secretan al menos dos veces tanto IFN- $\gamma$  como el nivel de fondo de IFN- $\gamma$  del PBL no transducido en el cocultivo con las células diana HLA- DP $\beta$ 1\*04+ de antígeno negativo pulsadas con una baja concentración del péptido de MAGE-A3 y/o MAGE-A6. Los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) también pueden secretar el IFN- $\gamma$  en el cocultivo con las células diana HLA- DP $\beta$ 1\*04+ de antígeno negativo pulsadas con concentraciones mayores de péptido MAGE-A3 y/o MAGE-A6.

En el presente documento se desvela un TCR (incluyendo porciones funcionales y variantes del mismo) con especificidad antigénica para cualquier proteína, polipéptido o péptido MAGE-A3. El TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos) pueden tener especificidad antigénica para una proteína MAGE-A3 comprendiendo, consistiendo en o consistiendo esencialmente en la SEQ ID NO: 1. Preferentemente, el TCR (incluyendo las porciones funcionales y variantes de los mismos) tiene especificidad antigénica para un péptido MAGE-A3<sub>243-258</sub> comprendiendo, consistiendo en o consistiendo esencialmente en KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 2).

Los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) son capaces de reconocer el MAGE-A3 de una manera dependiente del antígeno del leucocito humano (HLA)-DP $\beta$ 1\*04. “Dependiente de HLA-DP $\beta$ 1\*04”, tal como se usa en el presente documento, significa que los TCR generan una respuesta inmune en la unión a una proteína, polipéptido o péptido MAGE-A3, dentro del contexto de una molécula HLA-DP $\beta$ 1\*04. Los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) son capaces de reconocer el MAGE-A3 que se presenta por una molécula HLA-DP $\beta$ 1\*04 y puede unirse a la molécula HLA-DP $\beta$ 1\*04 además del MAGE-A3. Las moléculas ejemplares de HLA-DP $\beta$ 1\*04, en el contexto del cual los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) reconocen el MAGE-A3, incluye aquellas codificadas por los alelos HLA-DP $\beta$ 1\*0401 y/o HLA-DP $\beta$ 1\*0402.

En el presente documento se desvela además un TCR (incluyendo las porciones funcionales y las variantes de los mismos) con especificidad antigénica para cualquier proteína, polipéptido o péptido MAGE-A6. El TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos) pueden tener especificidad antigénica para una proteína MAGE-A6 comprendiendo, consistiendo en o consistiendo esencialmente en la SEQ ID NO: 45. Preferentemente, el TCR (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales del mismo) tiene especificidad antigénica para un péptido MAGE-A6<sub>243-258</sub> comprendiendo, consistiendo en o consistiendo esencialmente en KKLLTQYFVQENYLEY (SEQ ID NO: 46).

En el presente documento se desvela además un TCR que comprende dos polipéptidos (es decir, cadenas de polipéptidos), tales como una cadena alfa ( $\alpha$ ) de un TCR, una cadena beta ( $\beta$ ) de un TCR, una cadena gamma ( $\gamma$ ) de un TCR, una cadena delta ( $\delta$ ) de un TCR, o una combinación de los mismos. Los polipéptidos del TCR de la invención pueden comprender cualquier secuencia de aminoácidos, con la condición de que el TCR tenga especificidad antigénica para MAGE-A3 en el contexto de HLA-DP $\beta$ 1\*04.

El TCR de la invención puede comprender dos cadenas de polipéptidos, cada una de las cuales comprende una región variable que comprende una región determinante de complementariedad (CDR)1, una CDR2, y una CDR3 de un TCR. El TCR puede comprender una primera cadena de polipéptidos que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 o 13 (CDR1 de la cadena  $\alpha$ ), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 o 14 (CDR2 de la cadena  $\alpha$ ), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 o 15 (CDR3 de la cadena  $\alpha$ ), y una segunda cadena de polipéptidos que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 o 16 (CDR1 de la cadena  $\beta$ ), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 o 17 (CDR2 de la cadena  $\beta$ ), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 o 18 (CDR3 de la cadena  $\beta$ ). En este sentido, el TCR de la invención puede comprender una cualquiera o más de las secuencias de aminoácidos del grupo que consiste en una cualquiera o más de las SEQ ID NO: 3-5, 6-8, 13-15, y 16-18. Preferentemente, el TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-8 o 13-18. Más preferentemente, el TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 3-8.

Como alternativa o adicionalmente, el TCR puede comprender una secuencia de aminoácidos de una región variable

de un TCR que comprende las CDR establecidas anteriormente. En este sentido, el TCR puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 o 19 (la región variable de una cadena  $\alpha$ ) o 10 o 20 (la región variable de una cadena  $\beta$ ), ambas SEQ ID NO: 9 y 10 o ambas SEQ ID NO: 19 y 20. Preferentemente, el TCR de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 9 y 10.

Como alternativa o adicionalmente, el TCR puede comprender una cadena  $\alpha$  de un TCR y una cadena  $\beta$  de un TCR. Cada una de las cadenas  $\alpha$  y la cadena  $\beta$  del TCR de la invención puede comprender independientemente cualquier secuencia de aminoácidos. Preferentemente, la cadena  $\alpha$  comprende la región variable de una cadena  $\alpha$  como se estableció anteriormente. En este sentido, el TCR de la invención puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 o 21. Una cadena  $\alpha$  de este tipo se puede emparejar con cualquiera de la cadena  $\beta$  de un TCR. Preferentemente, la cadena  $\beta$  del TCR de la invención comprende la región variable de una cadena  $\beta$  como se estableció anteriormente. En este sentido, el TCR de la invención puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12 o 22. El TCR de la invención, por lo tanto, puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11, 12, 21, o 22, ambas SEQ ID NO: 11 y 12 o ambas SEQ ID NO: 21 y 22. Preferentemente, el TCR de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 11 y 12.

En el presente documento se desvelan además las variantes funcionales de los TCR de la invención descritos en el presente documento. La expresión "variante funcional" tal como se usa en el presente documento se refiere a un TCR, polipéptido o proteína que tiene identidad o similitud de secuencia significativa o sustancial con un TCR, polipéptido o proteína originario, cuya variante funcional conserva la actividad biológica del TCR, polipéptido o proteína del cual es una variante. Las variantes funcionales abarcan, por ejemplo, aquellas variantes del TCR, polipéptido o proteína descrito en el presente documento (el TCR, polipéptido o proteína originario) que conserva la capacidad para unirse específicamente a un MAGE-A3 y/o MAGE-A6 para el cual el TCR originario tiene especificidad antigénica o al cual el polipéptido o proteína originaria se une específicamente de forma similar, de la misma forma o en mayor medida que el TCR, polipéptido o proteína originaria. En referencia al TCR, polipéptido o proteína originaria, la variante funcional puede, por ejemplo, ser al menos aproximadamente el 30 %, 50 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idéntica en la secuencia de aminoácidos para el TCR, polipéptido o proteína originaria (parent).

La variante funcional puede, por ejemplo, comprender la secuencia de aminoácidos del TCR, polipéptido o proteína originaria con al menos una sustitución de aminoácido conservativa. Las sustituciones de aminoácidos conservativas son bien conocidas en la técnica e incluyen las sustituciones de aminoácidos en las cuales un aminoácido que tiene ciertas propiedades físicas y/o químicas se intercambia con otro aminoácido que tiene las mismas propiedades físicas o químicas. Por ejemplo, la sustitución de aminoácidos conservativa puede ser un aminoácido ácido sustituido por otro aminoácido ácido (por ejemplo, Asp o Glu), un aminoácido con cadena lateral no polar sustituido con otro aminoácido con una cadena lateral no polar (por ejemplo, Ala, Gly, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val, etc.), un aminoácido básico sustituido con otro aminoácido básico (Lys, Arg, etc.), un aminoácido con una cadena lateral polar sustituido con otro aminoácido con una cadena lateral polar (Asn, Cys, Gln, Ser, Thr, Tyr, etc.), etc.

Como alternativa o adicionalmente, las variantes funcionales pueden comprender la secuencia de aminoácidos del TCR, polipéptido o proteína originaria con al menos una sustitución de aminoácidos no conservativa. En este caso, es preferible para la sustitución de aminoácidos no conservativa no interferir con o inhibir la actividad biológica de la variante funcional. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos no conservativa mejora la actividad biológica de la variante funcional, de manera que la actividad biológica de la variante funcional se incrementa en comparación con el TCR, polipéptido o proteína originaria.

En este sentido, la divulgación proporciona un TCR purificado o aislado que comprende (a) las SEQ ID NO: 3-8, (b) las SEQ ID NO: 21-22, o una variante funcional de (a) o (b), en donde la variante funcional comprende (a) o (b) con al menos una sustitución de aminoácidos en una cualquiera o más de (a) o una cualquiera o más de (b) y la variante funcional tiene especificidad antigénica para MAGE-A3 en el contexto de HLA-DP $\beta$ 1\*04. Preferentemente, la sustitución del aminoácido se localiza en una región CDR3 de la cadena alfa o beta, preferentemente en la región CDR3 de la cadena alfa. En algunas realizaciones, la variante funcional (o porciones funcionales de la misma) proporciona una mayor reactividad frente a MAGE-A3 en comparación con la secuencia de aminoácidos del TCR originario. En general, las secuencias de aminoácidos de la cadena  $\alpha$  sustituida SEQ ID NO: 29, 31, y 33 corresponden con todo o las porciones de la SEQ ID NO: 11 no sustituida, natural (cadena  $\alpha$  del TCR), con las SEQ ID NO: 29, 31, y 33 que tienen al menos una sustitución en comparación con la SEQ ID NO: 11. Preferentemente, uno o más Ser116, Ser117, Gly118, y Thr119 naturales se sustituye. Así mismo, las secuencias de aminoácidos de cadena  $\beta$  sustituida SEQ ID NO: 30, 32, y 34 corresponden con todo o las porciones de la SEQ ID NO: 12 no sustituida, natural (cadena  $\beta$  del TCR), con las SEQ ID NO: 30, 32, y 34 que tienen al menos una sustitución cuando se comparan con la SEQ ID NO: 12. Preferentemente, uno o más de Arg115, Thr116, Gly117, y Pro118 naturales se sustituye.

En particular, la divulgación proporciona una variante funcional de un TCR comprendiendo (i) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa5 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa6 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y Xaa7 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met y/o (ii) SEQ ID NO: 30, en donde Xaa4 es Arg, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa5 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa6 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y Xaa7 es Pro, Ala, Leu, Ile, Val, o Met.

La SEQ ID NO: 29 generalmente corresponde a las posiciones 113-123 de la SEQ ID NO: 11 no sustituida, natural con la excepción de que en la SEQ ID NO: 29, uno o más de Ser4, Ser5, Gly6, y Thr7 se sustituye. Preferentemente, la variante funcional comprende (a) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ala, Xaa5 es Ser, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr, o (b) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Xaa5 es Ala, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr. Aunque en algunas realizaciones, la SEQ ID NO: 29 puede comprender CDR3 $\alpha$  SEQ ID NO: 5 de tipo silvestre, preferentemente, la SEQ ID NO: 29 no comprende la SEQ ID NO: 5. La SEQ ID NO: 30 generalmente se corresponde con las posiciones 112-126 de la SEQ ID NO: 12 no sustituida, natural con la excepción de que en la SEQ ID NO: 30, uno o más de Arg4, Thr5, Gly6, y Pro7 se sustituye. Aunque en algunas realizaciones, la SEQ ID NO: 30 puede comprender CDR3 $\beta$  SEQ ID NO: 8 de tipo silvestre, preferentemente, la SEQ ID NO: 30 no comprende la SEQ ID NO: 8.

La invención también proporciona una variante funcional de un TCR que comprende (i) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa117 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa118 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y Xaa119 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y/o (ii) SEQ ID NO: 32, en donde Xaa115 es Arg, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa116 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa117 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y Xaa118 es Pro, Ala, Leu, Ile, Val, o Met. La SEQ ID NO: 31 generalmente corresponde a las posiciones 1-134 de la SEQ ID NO: 11 natural, no sustituida con la excepción que en la SEQ ID NO: 31, uno o más de uno o más de Ser116, Ser117, Gly118, y Thr119 se sustituye. Preferentemente, la variante funcional comprende (a) SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o (b) SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr. Aunque en algunas realizaciones, la SEQ ID NO: 31 puede comprender CDR3 $\alpha$  SEQ ID NO: 5 de tipo silvestre, preferentemente, la SEQ ID NO: 31 no comprende la SEQ ID NO: 5. La SEQ ID NO: 32 generalmente se corresponde con las posiciones 1-137 de la SEQ ID NO: 12 natural, no sustituida con la excepción que en la SEQ ID NO: 32, uno o más de uno o más de Arg115, Thr116, Gly117, y Pro118 se sustituye. Aunque en algunas realizaciones, la SEQ ID NO: 32 puede comprender CDR3 $\beta$  SEQ ID NO: 8 de tipo silvestre, preferentemente, la SEQ ID NO: 32 no comprende la SEQ ID NO: 8.

También se proporciona por la invención la variante funcional de un TCR que comprende: (i) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa117 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa118 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y Xaa119 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y/o (ii) SEQ ID NO: 34, en donde Xaa115 es Arg, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa116 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; Xaa117 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met; y Xaa118 es Pro, Ala, Leu, Ile, Val, o Met. La SEQ ID NO: 33 generalmente se corresponde con las posiciones 1-275 de la SEQ ID NO: 11 natural, no sustituida con la excepción de que en la SEQ ID NO: 33, uno o más de uno o más de Ser116, Ser117, Gly118, y Thr119 se sustituye. Preferentemente, la variante funcional comprende (a) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o (b) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr. Aunque en algunas realizaciones, la SEQ ID NO: 33 puede comprender CDR3 $\alpha$  SEQ ID NO: 5 de tipo silvestre, preferentemente, la SEQ ID NO: 33 no comprende la SEQ ID NO: 5. La SEQ ID NO: 34 generalmente se corresponde con las posiciones 1-313 de la SEQ ID NO: 12 natural, no sustituida con la excepción de que en la SEQ ID NO: 34, uno o más de uno o más de Arg115, Thr116, Gly117, y Pro118 se sustituye. Aunque en algunas realizaciones, la SEQ ID NO: 34 puede comprender CDR3 $\beta$  SEQ ID NO: 8 de tipo silvestre, preferentemente, la SEQ ID NO: 34 no comprende la SEQ ID NO: 8.

Como los TCR desvelados en el presente documento, las variantes funcionales descritas en el presente documento comprenden dos cadenas de polipéptidos, cada una de las cuales comprende una región variable comprendiendo una CDR1, una CDR2 y una CDR3 de un TCR. Preferentemente, la primera cadena de polipéptidos comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3 (CDR1 de la cadena  $\alpha$ ), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 (CDR2 de la cadena  $\alpha$ ), y una CDR3 sustituida que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 (CDR3 sustituido de la cadena  $\alpha$ ) y la segunda cadena de polipéptidos comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 (CDR1 de la cadena  $\beta$ ), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 (CDR2 de la cadena  $\beta$ ), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 (CDR3 de la cadena  $\beta$ ). En otra realización, la primera cadena de polipéptidos comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 (CDR1 de la cadena  $\alpha$ ), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 (CDR2 de la cadena  $\alpha$ ), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 (CDR3 de la cadena  $\alpha$ ), y la segunda cadena de polipéptidos comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6 (CDR1 de la cadena  $\beta$ ), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 (CDR2 de la cadena  $\beta$ ), y una CDR3 sustituida que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 (CDR3 sustituido de la cadena  $\beta$ ). En este sentido, la variante funcional de la invención de un TCR de la invención puede comprender las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 3-5; las SEQ ID NO: 3-4 y 29; las SEQ ID NO: 6-8; y las SEQ ID NO: 6-7 y 30. Preferentemente la variante funcional de un TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-4, 29, y 6-8; las SEQ ID NO: 3-7 y 30; o las SEQ ID NO: 3-4, 29, 6-7, y 30. Más preferentemente, la variante funcional de un TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-4, 29, y 6-8.

Como alternativa o adicionalmente, la variante funcional de un TCR puede comprender una secuencia de aminoácidos sustituida de una región variable de un TCR que comprende las CDR establecidas anteriormente. En este sentido, el TCR puede comprender la secuencia de aminoácidos sustituida de la SEQ ID NO: 31 (la región variable sustituida de una cadena  $\alpha$ ), 10 (la región variable de una cadena  $\beta$ ), ambas SEQ ID NO: 31 y 10, la

5 secuencia de aminoácidos sustituida de la SEQ ID NO: 32 (la región variable sustituida de una cadena  $\beta$ ), 9 (la región variable de una cadena  $\alpha$ ), ambas SEQ ID NO: 9 y 32, o ambas SEQ ID NO: 31 y 32. Preferentemente, la variante funcional de la invención de un TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31 y 10 o las SEQ ID NO: 32 y 9. Más preferentemente, la variante de la invención de un TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31 y 10.

10 Como alternativa o adicionalmente, la variante funcional de un TCR puede comprender una cadena  $\alpha$  sustituida de un TCR y una cadena  $\beta$  de un TCR. Cada una de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del TCR de la invención puede comprender independientemente cualquier secuencia de aminoácidos. Preferentemente, la cadena  $\alpha$  sustituida comprende una región variable sustituida de una cadena  $\alpha$  como se estableció anteriormente. En este sentido, la cadena  $\alpha$  sustituida de la invención de un TCR puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33. Una cadena  $\alpha$  sustituida de la invención de este tipo se puede emparejar con cualquier cadena  $\beta$  de un TCR. Preferentemente, la cadena  $\beta$  del TCR de la invención comprende la región variable de una cadena  $\beta$  como se estableció anteriormente. En este sentido, el TCR de la invención puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12 o la secuencia de aminoácidos sustituida SEQ ID NO: 34. Una cadena  $\beta$  sustituida de la invención de este tipo se puede emparejar con cualquier cadena  $\alpha$  de un TCR. En este sentido, el TCR de la invención puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 o 33. La variante funcional de la invención de un TCR, por lo tanto, puede comprender la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 12, 33, 34, ambas SEQ ID NO: 33 y 34; ambas SEQ ID NO: 11 y 34; o ambas SEQ ID NO: 12 y 33. Preferentemente, la variante funcional de la invención de un TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11 y 34 o las SEQ ID NO: 12 y 33. Más preferentemente, la variante funcional de un TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 12 y 33.

25 El TCR (o la variante funcional del mismo) desvelado en el presente documento puede comprender una región constante humana. En este sentido, el TCR (o la variante funcional del mismo) puede comprender una región constante humana que comprende las SEQ ID NO: 23 o 35 (región constante humana de una cadena  $\alpha$ ), las SEQ ID NO: 24 o 36 (región constante humana de la cadena  $\beta$ ), ambas SEQ ID NO: 23 y 24, o ambas SEQ ID NO: 35 y 36. Preferentemente, el TCR (o la variante funcional del mismo) comprende ambas SEQ ID NO: 23 y 24.

30 El TCR (o la variante funcional del mismo) desvelado en el presente documento puede comprender un TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional del mismo). En este sentido, el TCR (o la variante funcional del mismo) puede comprender una región constante de ratón que comprende la SEQ ID NO: 25 (región constante de ratón de una cadena  $\alpha$ ). La SEQ ID NO: 26 (región constante de ratón de la cadena  $\beta$ ), o ambas SEQ ID NO: 25 y 26. Preferentemente, el TCR (o la variante funcional del mismo) comprende ambas SEQ ID NO: 25 y 26.

35 El TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o la porción funcional del mismo) puede comprender cualquiera de las CDR establecidas anteriormente. En este sentido, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o la porción funcional del mismo) puede comprender la secuencia de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 3-5; las SEQ ID NO: 13-15; las SEQ ID NO: 16-18; las SEQ ID NO: 3-4 y 29; las SEQ ID NO: 6-8; y las SEQ ID NO: 6-7 y 30. Preferentemente, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o la porción funcional del mismo) comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-8; las SEQ ID NO: 13-18; las SEQ ID NO: 3-4, 29, y 6-8; las SEQ ID NO: 3-7 y 30; o las SEQ ID NO: 3-4, 29, 6-7, y 30. Más preferentemente, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o la porción funcional del mismo) comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-4, 29, y 6-8 o las SEQ ID NO: 3-8.

45 Como alternativa o adicionalmente, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o porción funcional del mismo) puede comprender cualquiera de las regiones variables anteriormente establecidas. En este sentido, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o la porción funcional del mismo) puede comprender la secuencia de aminoácidos sustituidos de la SEQ ID NO: 31 (la región variable sustituida de una cadena  $\alpha$ ), la SEQ ID NO: 10 o 20 (la región variable de una cadena  $\beta$ ), la secuencia de aminoácidos sustituida de la SEQ ID NO: 32 (la región variable sustituida de una cadena  $\beta$ ), la SEQ ID NO: 9 o 19 (la región variable de una cadena  $\alpha$ ), ambas SEQ ID NO: 9 y 32, ambas SEQ ID NO: 31 y 32, ambas SEQ ID NO: 31 y 10, ambas SEQ ID NO: 9 y 10, o ambas SEQ ID NO: 19 y 20. Preferentemente, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o porción funcional del mismo) comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31 y 10, las SEQ ID NO: 9 y 10, o las SEQ ID NO: 32 y 9. Más preferentemente, la variante funcional o porción funcional de la invención de un TCR comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 31 y 10, o las SEQ ID NO: 9 y 10.

60 Como alternativa o adicionalmente, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o porción funcional del mismo) puede comprender una cadena  $\alpha$  de un TCR (o la variante funcional o porción funcional del mismo) y una cadena  $\beta$  de un TCR (o la variante funcional o porción funcional del mismo). Cada una de la cadena  $\alpha$  y la cadena  $\beta$  del TCR quimérico de ratón/humano de la invención (o la variante funcional o porción funcional del mismo) puede comprender independientemente cualquier secuencia de aminoácidos. Preferentemente, la cadena  $\alpha$  comprende la región variable de una cadena  $\alpha$  tal como se estableció anteriormente. En este sentido, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o porción funcional del mismo) puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27. Un TCR quimérico de ratón/humano de la invención (o la variante funcional o porción funcional del mismo) de este tipo puede emparejarse con cualquier cadena  $\beta$  de un TCR (o la variante

funcional o porción funcional del mismo). Preferentemente, la cadena  $\beta$  del TCR quimérico de ratón/humano de la invención (o la variante funcional o porción funcional del mismo) comprende la región variable de una cadena  $\beta$  como se estableció anteriormente. En este sentido, el TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o porción funcional del mismo) puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28. El TCR quimérico de ratón/humano (o la variante funcional o porción funcional del mismo), por lo tanto, puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27 o 28, o ambas SEQ ID NO: 27 y 28. Preferentemente, el TCR comprende las secuencias de aminoácidos SEQ ID NOs: 27 y 28.

En el presente documento se desvela también un polipéptido que comprende una porción funcional de cualquiera de los TCR o las variantes funcionales descritas en el presente documento. El término "polipéptido" tal como se usa en el presente documento incluye oligopéptidos y se refiere a una cadena simple de aminoácidos conectados por uno o más enlaces peptídicos.

Con respecto a los polipéptidos desvelados en el presente documento, la porción funcional puede ser cualquier porción que comprende los aminoácidos contiguos del TCR (o la variante funcional del mismo) del cual es una parte, con la condición de que la porción funcional específicamente se una a MAGE-A3 y/o a MAGE-A6. El término "porción funcional" cuando se usa en referencia a un TCR (o variante funcional del mismo) se refiere a cualquier parte del TCR (o la variante funcional del mismo) desvelada en el presente documento, cuya parte o fragmento conserva la actividad biológica del TCR (o la variante funcional del mismo) de cual es una parte (el TCR madre o la variante funcional madre del mismo). Las porciones funcionales abarcan, por ejemplo, aquellas partes de un TCR (o la variante funcional del mismo) que conservan la capacidad para unirse específicamente a MAGE-A3 (por ejemplo, en un HLA-DP $\beta$ 1\*04-manera dependiente) o MAGE-A6, o detectar, tratar o prevenir el cáncer de un modo similar, del mismo modo o en mayor grado que el TCR originario (o la variante funcional del mismo). En referencia al TCR originario (o la variante funcional del mismo), la porción funcional puede comprender, por ejemplo, aproximadamente el 10 %, 25 %, 30 %, 50 %, 68 %, 80 %, 90 %, 95 %, o más, del TCR originario (o la variante funcional del mismo).

La porción funcional puede comprender aminoácidos adicionales en el extremo amino terminal o carboxilo terminal de la porción o en ambos extremos terminales, cuyos aminoácidos adicionales no se encuentran en la secuencia de aminoácidos del TCR originario o la variante funcional del mismo. De manera deseable, los aminoácidos adicionales no interfieren con la función biológica de la porción funcional, por ejemplo, que se une específicamente a MAGE-A3 y/o MAGE-A6; y/o que tiene la capacidad para detectar el cáncer, tratar o prevenir el cáncer, etc. De manera más deseable, los aminoácidos adicionales mejoran la actividad biológica, en comparación con la actividad biológica del TCR originario o la variante funcional del mismo.

El polipéptido puede comprender una porción funcional de cualquiera o ambas de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de los TCR o la variante funcional del mismo de la invención, tal como una porción funcional que comprende una o más de CDR1, CDR2 y CDR3 de la(s) región(es) variable(s) de la cadena  $\alpha$  y/o de la cadena  $\beta$  de un TCR o una variante funcional del mismo de la invención. En este sentido, el polipéptido puede comprender una porción funcional que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 o 13 (CDR1 de la cadena  $\alpha$ ), 4 o 14 (CDR2 de la cadena  $\alpha$ ), 5, 15, o 29 (CDR3 de la cadena  $\alpha$ ), 6 o 16 (CDR1 de la cadena  $\beta$ ), 7 o 17 (CDR2 de la cadena  $\beta$ ), 8, 18, o 30 (CDR3 de la cadena  $\beta$ ), o una combinación de los mismos. Preferentemente, el polipéptido desvelado en el presente documento comprende una porción funcional que comprende las SEQ ID NO: 3-5; 3-4 y 29; 6-8; 6-7 y 30; 13-15; 16-18; todo de las SEQ ID NO: 3-8; todo de las SEQ ID NO: 13-18; todo de las SEQ ID NO: 3-4, 29, y 6-8; todo de las SEQ ID NO: 3-7 y 30; o todo de las SEQ ID NO: 3-4, 29, 6-7, y 30. Más preferentemente, el polipéptido comprende una porción funcional que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 3-8 o todo de las SEQ ID NO: 3-4, 29, y 6-8.

Como alternativa o adicionalmente, el polipéptido puede comprender, por ejemplo, la región variable del TCR o la variante funcional del mismo que comprende una combinación de las regiones CDR anteriormente establecidas. En este sentido, el polipéptido puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9, 19, o 31 (la región variable de una cadena  $\alpha$ ), SEQ ID NO: 10, 20, o 32 (la región variable de una cadena  $\beta$ ), ambas SEQ ID NO: 9 y 10, ambas SEQ ID NO: 19 y 20; ambas SEQ ID NO: 31 y 32; ambas SEQ ID NO: 9 y 32; o ambas SEQ ID NO: 10 y 31. Preferentemente, el polipéptido comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 9 y 10 o ambas SEQ ID NO: 10 y 31.

Como alternativa o adicionalmente, el polipéptido puede comprender la longitud completa de una cadena  $\alpha$  o  $\beta$  de uno de los TCR o la variante funcional del mismo descrito en el presente documento. En este sentido, el polipéptido de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 12, 21, 22, 27, 28, 33, o 34. Como alternativa, el polipéptido puede comprender las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de los TCR o las variantes funcionales de los mismos descritos en el presente documento. Por ejemplo, el polipéptido puede comprender las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 11 y 12, ambas SEQ ID NO: 21 y 22, ambas SEQ ID NO: 33 y 34, ambas SEQ ID NO: 11 y 34, ambas SEQ ID NO: 12 y 33, o ambas SEQ ID NO: 27 y 28. Preferentemente, el polipéptido comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 11 y 12, ambas SEQ ID NO: 33 y 12, o ambas SEQ ID NO: 27 y 28.

La divulgación se refiere además a una proteína que comprende al menos uno de los polipéptidos descritos en el

presente documento. Por "proteína" se entiende una molécula que comprende una o más cadenas de polipéptidos.

En una realización, la proteína desvelada en el presente documento puede comprender una primera cadena de polipéptidos que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-5, las SEQ ID NO: 13-15, o las SEQ ID NO: 3-4 y 29 y una segunda cadena de polipéptidos que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6-8, las SEQ ID NO: 16-18, o las SEQ ID NO: 6-7 y 30. Como alternativa o adicionalmente, la proteína desvelada en el presente documento puede comprender una primera cadena de polipéptidos que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 9, 19, o 31 y una segunda cadena de polipéptidos que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 10, 20, o 32. La proteína desvelada en el presente documento puede, por ejemplo, comprender una primera cadena de polipéptidos que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 21, 27, o 33 y una segunda cadena de polipéptidos que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 12, 22, 28, o 34. En este ejemplo, la proteína de la invención puede ser un TCR. Como alternativa, si por ejemplo, la proteína comprende una sola cadena de polipéptidos que comprende las SEQ ID NO: 11, 21, 27, o 33 y las SEQ ID NO: 12, 22, 28, o 34, o si la primera y/o segunda cadena(s) de polipéptidos de la proteína además comprende(n) otras secuencias de aminoácidos, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que codifica una inmunoglobulina o una porción de la misma, entonces la proteína de la invención puede ser una proteína de fusión. En este sentido, la divulgación también proporciona una proteína de fusión que comprende al menos un polipéptido de la invención descrito en el presente documento junto con al menos otro polipéptido. El otro polipéptido puede existir como un polipéptido separado de la proteína de fusión o puede existir como un polipéptido, el cual se expresa en marco (en tándem) con uno de los polipéptidos de la invención descritos en el presente documento. El otro polipéptido puede codificar cualquier molécula proteínica o peptídica o una porción del mismo, que incluye, pero sin limitarse a una inmunoglobulina, CD3, CD4, CD8, una molécula del MHC, una molécula CD1, por ejemplo, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, etc.

La proteína de fusión puede comprender una o más copias del polipéptido desvelado en el presente documento y/o una o más copias del otro polipéptido. Por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, o más, copias del polipéptido desvelado en el presente documento y/o del otro polipéptido. Los métodos adecuados para hacer las proteínas de fusión se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, los métodos recombinantes. Ver, por ejemplo, Choi et al., *Mol. Biotechnol.* 31: 193-202 (2005).

Los TCR (y las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, y proteínas pueden expresarse como una sola proteína que comprende un péptido enlazador que une la cadena  $\alpha$  y la cadena  $\beta$ . En este sentido, los TCR (y las variantes funcionales y las porciones funcionales del mismo), polipéptidos y proteínas que comprenden las SEQ ID NO: 11, 21, 27, o 33 y las SEQ ID NO: 12, 22, 28, o 34 además pueden comprender un péptido enlazador. El péptido enlazador puede facilitar la expresión de un TCR recombinante (incluyendo las porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos), polipéptido y/o proteína en una célula hospedadora. Tras la expresión de la construcción que incluye el péptido enlazador por una célula hospedadora, el péptido enlazador puede escindir, dando como resultado las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  separadas.

La proteína desvelada en el presente documento puede ser un anticuerpo recombinante que comprende al menos uno de los polipéptidos descritos en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, "anticuerpo recombinante" se refiere a una proteína recombinante (por ejemplo, diseñada genéticamente) que comprende al menos uno de los polipéptidos desvelados en el presente documento y una cadena de polipéptidos de un anticuerpo o una porción del mismo. El polipéptido de un anticuerpo o la porción del mismo puede ser una cadena pesada, una cadena ligera, una región constante o variable de una cadena ligera o pesada, un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), o un fragmento de un anticuerpo Fc, Fab, o F(ab)<sub>2</sub>, etc. La cadena del polipéptido de un anticuerpo o porción del mismo puede existir como un polipéptido separado del anticuerpo recombinante. Como alternativa, la cadena de polipéptido de un anticuerpo o porción del mismo, puede existir como un polipéptido, que se expresa en marco (en tándem) con el polipéptido desvelado en el presente documento. El polipéptido de un anticuerpo o porción del mismo puede ser un polipéptido de cualquier anticuerpo o cualquier fragmento del anticuerpo, incluyendo cualquiera de los anticuerpos y fragmentos de los anticuerpos descritos en el presente documento.

El TCR (o la variante funcional del mismo), polipéptido o proteína puede consistir esencialmente en la secuencia o secuencias de aminoácidos específicos descritos en el presente documento, de manera que los otros componentes del TCR (o variante funcional del mismo), polipéptido, o proteína, por ejemplo, los otros aminoácidos, no cambian materialmente la actividad biológica del TCR (o la variante funcional del mismo), polipéptido o proteína. En este sentido, el TCR de la invención (o la variante funcional del mismo), polipéptido o proteína, puede por ejemplo, consistir esencialmente en la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 12, 21, 22, 27, 28, 33, y 34, ambas SEQ ID NO: 11 y 12, ambas SEQ ID NO: 21 y 22, ambas SEQ ID NO: 27 y 28, ambas SEQ ID NO: 33 y 34, ambas SEQ ID NO: 11 y 34, o ambas SEQ ID NO: 12 y 33. También, por ejemplo, los TCR de la invención (incluyendo las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos o proteínas pueden consistir esencialmente en las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 9, 10, 19, 20, 31, 32, ambas SEQ ID NO: 9 y 10, ambas SEQ ID NO: 19 y 20, ambas SEQ ID NO: 31 y 32, ambas SEQ ID NO: 9 y 32, ambas SEQ ID NO: 10 y 31. Asimismo, los TCR de la invención (incluyendo las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos o proteínas pueden consistir esencialmente de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 o 13 (CDR1 de la cadena  $\alpha$ ), SEQ ID NO: 4 o 14 (CDR2 de la cadena  $\alpha$ ), SEQ ID NO: 5, 15, o 29 (CDR3 de la cadena  $\alpha$ ), SEQ ID NO: 6 o 16 (CDR1 de la cadena  $\beta$ ),

SEQ ID NO: 7 o 17 (CDR2 de la cadena  $\beta$ ), SEQ ID NO: 8, 18, o 30 (CDR3 de la cadena  $\beta$ ), o cualquier combinación de los mismos, por ejemplo las SEQ ID NO: 3-5; 6-8; 3-8; 13-15; 16-18; 13-18; 3-4 y 29; 6-7 y 30; 3-4, 29, y 6-8; 3-7 y 30; o 3-4, 29, 6-7, y 30.

5 Los TCR, polipéptidos y proteínas de la invención (incluyendo las variantes funcionales de los mismos) pueden ser de cualquier longitud, es decir, pueden comprender cualquier número de aminoácidos, siempre y cuando los TCR, polipéptidos o proteínas (o variantes funcionales de los mismos) conserven su actividad biológica, es decir, la capacidad para unirse específicamente a MAGE-A3 y/o MAGE-A6, para detectar el cáncer en un mamífero, o tratar o prevenir el cáncer en un mamífero, etc. Por ejemplo, el polipéptido puede estar en el intervalo de 50 a  
10 aproximadamente 5000 aminoácidos de longitud, tal como 50, 70, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 o más aminoácidos de longitud. En este sentido, los polipéptidos desvelados en el presente documento también incluyen oligopéptidos.

15 Los TCR, los polipéptidos y las proteínas desvelados en el presente documento (incluyendo las variantes funcionales de los mismos) de la invención pueden comprender los aminoácidos sintéticos en lugar de uno o más aminoácidos naturales. Dichos aminoácidos sintéticos se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo ácido aminociclohexano carboxílico, norleucina, ácido  $\alpha$ -amino n-decanoico, homoserina, S-acetilaminometil-cisteína, trans-3- y trans-4-hidroxiprolina, 4-aminofenilalanina, 4- nitrofenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-carboxifenilalanina,  $\beta$ -  
20 fenilserina  $\beta$ -hidroxifenilalanina, fenilglicina,  $\alpha$ -naftilalanina, ciclohexilalanina, ciclohexilglicina, ácido indolin-2-carboxílico, ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-3-carboxílico, ácido aminomalónico, monoamida del ácido aminomalónico, N'-bencil-N'-metil-lisina, N',N'-dibencil-lisina, 6-hidroxilisina, ornitina, ácido  $\alpha$ -aminociclopentano carboxílico, ácido  $\alpha$ -aminociclohexano carboxílico, ácido  $\alpha$ -aminocicloheptano carboxílico, ácido  $\alpha$ -(2-amino-2-norbornano)-carboxílico, ácido  $\alpha,\gamma$ -diaminobutírico, ácido  $\alpha,\beta$ -diaminopropiónico, homofenilalanina, y  $\alpha$ -terc-butilglicina.

25 Los TCR, los polipéptidos y las proteínas de la invención (incluyendo las variantes funcionales de los mismos) pueden ser glicosilados, amidados, carboxilados, fosforilados, esterificados, N-acetilados, ciclizados, por ejemplo, mediante un puente de disulfuro o convertidos en una sal de adición de ácido y/u opcionalmente dimerizados o polimerizados o conjugados.

30 El TCR, el polipéptido y/o proteína de la invención (incluyendo las variantes funcionales de los mismos) puede obtenerse por los métodos conocidos en la técnica. Los métodos apropiados de síntesis *de novo* de los polipéptidos y las proteínas se describen en las referencias, tales como Chan et al., Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis, Oxford University Press, Oxford, Reino Unido, 2005; Peptide and Protein Drug Analysis, ed. Reid, R., Marcel Dekker, Inc.,  
35 2000; Epitope Mapping, ed. Westwood et al., Oxford University Press, Oxford, Reino Unido, 2000; y la Patente de EE.UU. Nº. 5.449.752. También los polipéptidos y proteínas pueden producirse recombinantemente usando los ácidos nucleicos descritos en el presente documento usando los métodos recombinantes convencionales. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3<sup>ra</sup> ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY 2001; y Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates y John Wiley & Sons, NY, 1994. Además, algunos de los TCR, polipéptidos y proteínas desvelados en el presente documento (incluyendo las variantes funcionales de los mismos) pueden aislarse y/o purificarse de una fuente, tal como una planta, una bacteria, un insecto, un mamífero, por ejemplo, una rata, un ser humano, etc. Los métodos de aislamiento y purificación son bien conocidos en la técnica. Como alternativa, los TCR, los polipéptidos y/o proteínas descritos en el presente documento (incluyendo las variantes funcionales de los mismos) pueden sintetizarse comercialmente por las empresas tales como Synpep (Dublín, CA), Peptide Technologies Corp. (Gaithersburg, MD), y Multiple Peptide Systems (San Diego, CA). En este sentido, los TCR (incluyendo las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos y proteínas pueden sintetizarse, recombinarse, aislarse y/o purificarse.

50 Se desvelan además conjugados, por ejemplo, bioconjugados, que comprenden cualquiera de los TCR, polipéptidos o proteínas de la invención (incluyendo cualquiera de las variantes funcionales de los mismos), ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinante, células hospedadoras, poblaciones de células hospedadoras o anticuerpos o porciones de unión al antígeno de los mismos. Los conjugados, así como los métodos de síntesis de los conjugados en general, se conocen en la técnica (Véase, por ejemplo, Hudecz, F., *Methods Mol. Biol.* 298: 209-223 (2005) y Kirin et al., *Inorg Chem.* 44(15): 5405-5415 (2005)).

55 Por "ácido nucleico" tal como se usa en el presente documento se incluye "polinucleótido", "oligonucleótido" y "molécula de ácido nucleico" y generalmente se refiere a un polímero de ADN o ARN, el cual puede ser monocatenario o bicatenario, sintetizada u obtenida (por ejemplo, aislado y/o purificado) de fuentes naturales, que puede contener nucleótidos naturales, no naturales o alterados, y que puede contener un enlace entre nucleótidos natural, no natural o alterado, tal como un enlace de fosforoamidato o un enlace defosforotioato, en lugar de fosfodiéster encontrado entre los nucleótidos de un oligonucleótido no modificado. Generalmente se prefiere que el ácido nucleico no comprenda ninguna inserción, delección, inversión y/o sustitución. Sin embargo, puede ser apropiado en algunos ejemplos, como se trata en el presente documento, para el ácido nucleico comprender una o más inserciones, delecciones, inversiones y/o sustituciones.

65

Preferentemente, los ácidos nucleicos de la invención son recombinantes. Tal como se usa en el presente documento, el término "recombinante" se refiere a (i) moléculas que se construyen fuera de las células vivas mediante la unión natural o sintética de los segmentos de ácidos nucleicos a las moléculas del ácido nucleico que pueden replicarse en una célula viva o (ii) moléculas que son resultado de la replicación de aquellas descritas anteriormente en (i). Para los fines del presente documento, la replicación puede ser replicación *in vitro* o replicación *in vivo*.

Los ácidos nucleicos pueden construirse basándose en la síntesis química y/o en reacciones de unión enzimática usando los procedimientos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., citado anteriormente, y Ausubel et al., citado anteriormente. Por ejemplo, un ácido nucleico puede sintetizarse químicamente usando nucleótidos de origen natural o nucleótidos modificados de distintas formas diseñados para incrementar la estabilidad biológica de las moléculas o para incrementar la estabilidad física del dúplex formado en la hibridación (por ejemplo, derivados de fosforotioato y nucleótidos sustituidos con acridina). Los ejemplos de nucleótidos modificados que pueden usarse para generar los ácidos nucleicos incluyen pero no se limitan a 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-chlorouracilo, 5-iodouracilo, hipoxantina, xantina, 4-acetilcitosina, 5-(carboxihidroximetil) uracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-carboximetilaminometiluracil, dihidouracilo, beta-D-galactosilqueosina, inosina, N<sup>6</sup>-isopenteniladenina, 1-metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, adenina N<sup>6</sup>-sustituida, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, beta-D-mannosilqueosina, 5'-metoxycarboximetiluracilo, 5-metoxiuracilo, 2-metil-2-N<sup>6</sup>-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético (v), wibutoxosina, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, metiléster del ácido uracil-5-oxiacético, 3-(3-amino-3-N-2-carboxipropil) uracilo, y 2,6-diaminopurina. Alternativamente, uno o más de los ácidos nucleicos de la invención pueden comprarse en empresas tales como Macromolecular Resources (Fort Collins, CO) y Synthegen (Houston, TX).

El ácido nucleico puede comprender cualquier secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de los TCR, polipéptidos, proteínas o variantes funcionales de los mismos descritos en el presente documento. Por ejemplo, el ácido nucleico puede comprender, consistir en o consistir esencialmente en cualquiera de uno o más de la secuencia de nucleótidos SEQ ID NOs: 37-44.

La divulgación también proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento o una secuencia de nucleótidos que hibrida bajo condiciones rigurosas con la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento.

La secuencia de nucleótidos que hibrida en condiciones rigurosas preferentemente hibrida en condiciones muy severas. Por "condiciones muy rigurosas" se entiende que la secuencia de nucleótidos específicamente hibrida con una secuencia diana (la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento) en una cantidad que es detectablemente mayor que la hibridación no específica. Las condiciones muy rigurosas incluyen condiciones que distinguirían un polinucleótido con una secuencia complementaria exacta o una que contiene solamente un poco de desajustes dispersos de una secuencia aleatoria que pasa por tener pocas regiones pequeñas (por ejemplo, de 3-10 bases) que coinciden con la secuencia de nucleótidos. Dichas pequeñas regiones de complementariedad son más accesibles de fusionarse que un complemento de longitud completa de 14-17 o más bases y la hibridación de alta rigurosidad los hace más fácilmente distinguibles. Las condiciones de relativamente alta rigurosidad incluirán, por ejemplo, condiciones de baja salinidad y/o alta temperatura, tal como se proporcionan por aproximadamente 0,02-0,1 M de NaCl o el equivalente, en temperaturas de aproximadamente 50-70 °C. Dichas condiciones de alta rigurosidad toleran pocos desajustes, si los hay, entre la secuencia de nucleótidos y la cadena de molde o diana y son particularmente adecuadas para detectar la expresión de cualquiera de los TCR de la invención (incluyendo las porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos). Generalmente se aprecia que las condiciones pueden volverse más rigurosas por la adición de elevadas cantidades de formamida.

La divulgación también proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos aproximadamente el 70 % o más, por ejemplo, aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 %, o aproximadamente el 99 % idénticas a cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento.

Los ácidos nucleicos desvelados en el presente documento pueden incorporarse en un vector de expresión recombinante. En este sentido, la invención proporciona vectores de expresión recombinante que comprenden cualquiera de los ácidos nucleicos desvelados en el presente documento. Para los fines del presente documento, el término "vector de expresión recombinante" significa una construcción de polinucleótidos u oligonucleótidos genéticamente modificados que permite la expresión de un ARNm, una proteína, un polipéptido o un péptido por una célula hospedadora, cuando la construcción comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el ARNm, la proteína, el polipéptido o el péptido y el vector se pone en contacto con la célula en condiciones suficientes para que se exprese el ARNm, la proteína, el polipéptido o el péptido dentro de la célula. Los vectores desvelados en el presente documento no son completamente de origen natural. Sin embargo, las partes de los vectores pueden ser de origen natural. Los vectores de expresión recombinante de la invención pueden comprender cualquier tipo de

nucleótidos, incluyendo, pero sin limitación ADN y ARN, los cuales pueden ser monocatenarios o bicatenarios, sintetizados u obtenidos en parte de las fuentes naturales y las cuales pueden contener nucleótidos alterados o no naturales o naturales. Los vectores de expresión recombinante pueden comprender enlaces entre nucleótidos de origen natural o no natural, o ambos tipos de enlaces. Preferentemente, los nucleótidos o los enlaces entre nucleótidos naturales o no naturales no pueden impedir la transcripción o la replicación del vector.

El vector de expresión recombinante desvelado en el presente documento puede ser cualquier vector de expresión recombinante adecuado y se puede usar para transformar o transfectar cualquier célula hospedadora adecuada. Los vectores adecuados incluyen aquellos diseñados para la propagación y expansión o para la expresión o ambos, tales como plásmidos y virus. El vector puede seleccionarse del grupo que consiste en las series pUC (Fermentas Life Sciences), las series pBluescript (Stratagene, LaJolla, CA), las series pET (Novagen, Madison, WI), las series pGEX (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suecia), y las series pEX (Clontech, Palo Alto, CA). Los vectores bacteriófagos, tales como  $\lambda$ GT10,  $\lambda$ GT11,  $\lambda$ ZapII (Stratagene),  $\lambda$ EMBL4, y  $\lambda$ NM1149, también pueden usarse. Los ejemplos de los vectores de expresión en plantas incluyen pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 y pBIN19 (Clontech). Los ejemplos de vectores de expresión en animales incluyen pEUK-CI, pMAM y pMAMneo (Clontech). De preferencia, el vector de expresión recombinante es un vector vírico, por ejemplo, un vector retrovírico.

Los vectores de expresión recombinante desvelados en el presente documento pueden prepararse usando las técnicas de ADN recombinante convencionales descritas en, por ejemplo, Sambrook et al., citado anteriormente, y Ausubel et al., citado anteriormente. Las construcciones de los vectores de expresión, que son circulares o lineales, pueden prepararse para que contengan un sistema de replicación funcional en una célula hospedadora procariótica o eucariótica. Los sistemas de replicación pueden derivarse, por ejemplo, de ColEI, plásmido 2  $\mu$ ,  $\lambda$ , SV40, virus del papiloma bovino y similares.

De manera deseable, el vector de expresión recombinante comprende secuencias reguladoras, tales como codones de transcripción e inicio y de terminación de la transcripción y de la traducción, que son específicos para el tipo de célula hospedadora (por ejemplo, bacterias, hongos, plantas o animales) en la cual el vector se introduce, como sea apropiado y se tiene en cuenta si el vector es de ADN o de ARN.

El vector de expresión recombinante puede incluir uno o más genes marcadores, los cuales permiten la selección de células hospedadoras transfectadas o transformadas. Los genes marcadores incluyen resistencia biocida, por ejemplo, resistencia a los antibióticos, a los metales pesados, etc. complementación en una célula hospedadora auxótrofa para proporcionar protótrofos y similares. Los genes marcadores adecuados para los vectores de expresión de la invención incluyen, por ejemplo, genes de resistencia a la neomicina/G418, genes de resistencia a la higromicina, genes de resistencia al histidinol, genes de resistencia a la tetraciclina y genes de resistencia a la ampicilina.

El vector de expresión recombinante puede comprender un promotor natural o no natural operablemente unido a la secuencia de nucleótidos que codifica el TCR, polipéptido o proteína (incluyendo las variantes funcionales del mismo), o la secuencia de nucleótidos que es complementaria a o la cual hibrida con la secuencia de nucleótidos que codifica el TCR, polipéptido o proteína (incluyendo las variantes funcionales del mismo). La selección de promotores, por ejemplo, fuertes, débiles, inducibles, específico de tejido y específico de desarrollo, está dentro de la experiencia del experto. De manera similar, la combinación de una secuencia de nucleótidos con un promotor también está dentro de la experiencia del experto. El promotor puede ser un promotor no vírico, o un promotor vírico, por ejemplo, un promotor de citomegalovirus (CMV), un promotor del SV40, un promotor del RSV y un promotor encontrado en la repetición terminal larga del virus de las células madre de murino.

Los vectores de expresión recombinante de la invención pueden diseñarse para expresión transitoria, para expresión estable o para ambas. También, los vectores de expresión recombinante pueden estar hecho para la expresión constitutiva o para la expresión inducible. Además, los vectores de expresión recombinante pueden estar hechos para que incluyan un gen suicida.

Como se usa en el presente documento, la expresión "gen suicida" se refiere a un gen que provoca que la célula que expresa el gen suicida muera. El gen suicida puede ser un gen que confiere sensibilidad a un agente, por ejemplo, un fármaco, en la célula en la cual el gen se expresa y causa que la célula muera cuando la célula se pone en contacto con o se expone al agente. Los genes suicidas son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Suicide Gene Therapy: Methods and Reviews, Springer, Caroline J. (Centro Británico de Búsqueda del Cáncer para los Terapistas en el Instituto de Búsqueda del Cáncer, Sutton, Surrey, Reino Unido), Humana Press, 2004) e incluye por ejemplo, el gen de la timidina cinasa (Thymidine Kinase, TK) del virus del herpes simple (Herpes Simplex Virus, HSV), citosina daminasa, fosforilasa de nucleósido purina y nitrorreductasa.

En el presente documento se desvela además una célula hospedadora que comprende cualquiera de los vectores de expresión recombinante descritos en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "célula hospedadora" se refiere a cualquier tipo de célula que puede contener el vector de expresión recombinante de la invención. La célula hospedadora puede ser una célula eucariota, por ejemplo, de plantas, animales, hongos, o algas o puede ser una célula procariótica, por ejemplo bacterias o protozoos. La célula

hospedadora puede ser una célula cultivada o una célula primaria, es decir, aislada directamente de un organismo, por ejemplo, un ser humano. La célula hospedadora puede ser una célula adherente o una célula suspendida, es decir, una célula que crece en suspensión. Las células hospedadoras adecuadas se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, células DH5 $\alpha$  de *E. coli.*, células de ovarios de hámster chino, células VERO de monos, células COS, células HEK293 y similares. Para propósitos de amplificación o replicación del vector de expresión recombinante, la célula hospedadora preferentemente es una célula procariótica, por ejemplo, una célula DH5 $\alpha$ . Para propósitos de producir un TCR recombinante, polipéptido o proteína, la célula hospedadora preferentemente es una célula de mamífero. Más preferentemente, la célula hospedadora es una célula de humano. Aunque la célula hospedadora puede ser de cualquier tipo celular, puede originarse de cualquier tipo de tejido, y puede ser de cualquier estado de desarrollo, la célula hospedadora preferida es un linfocito de sangre periférica (Peripheral Blood Lymphocyte, PBL) o una célula mononuclear de sangre periférica (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC). Más preferentemente, la célula hospedadora es un linfocito T.

Para los fines del presente documento, el linfocito T puede ser cualquier linfocito T, tal como un linfocito T cultivado, por ejemplo, un linfocito T primario, o un linfocito T de una línea de linfocitos T cultivada, por ejemplo, Jurkat, SupT1, etc., o un linfocito T obtenido de un mamífero. Si se obtiene de un mamífero, el linfocito T puede obtenerse de numerosas fuentes, incluyendo, pero sin limitación, sangre, médula ósea, ganglios linfáticos, timo o de otros tejidos o fluidos. Los linfocitos T también pueden enriquecerse o purificarse. Preferentemente, el linfocito T es un linfocito T humano. Más preferentemente, el linfocito T es un linfocito T aislado de un humano. El linfocito T puede ser cualquier tipo de linfocito T y puede ser de cualquier estado de desarrollo, incluyendo pero sin limitación los linfocitos T doblemente positivos CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, linfocitos T CD4<sup>+</sup> colaboradores, por ejemplo linfocitos Th<sub>1</sub> y Th<sub>2</sub>, linfocitos T CD4<sup>+</sup>, linfocitos T CD8<sup>+</sup> (por ejemplo, linfocitos T citotóxicos), linfocitos infiltrantes de tumor (Tumor Infiltrating Lymphocytes, TIL), linfocitos T de memoria (por ejemplo, linfocitos T de la memoria central y linfocitos T de la memoria efectora), linfocitos T sin exposición previa (naïve T cells) y similares.

También se desvela en el presente documento una población de células que comprende al menos una célula hospedadora descrita en el presente documento. La población de células puede ser una población heterogénea que comprende la célula hospedadora que comprende cualquiera de los vectores de expresión recombinantes descritos, además de al menos una de las otras células, por ejemplo, una célula hospedadora (por ejemplo, un linfocito T), la cual no comprende ninguno de los vectores de expresión recombinante o una célula diferente al linfocito T, por ejemplo, un linfocito B, un macrófago, un neutrófilo, un eritrocito, un hepatocito, una célula endotelial, una célula epitelial, una célula muscular, una célula del cerebro, etc. Como alternativa, la población de células puede ser una población sustancialmente homogénea, en la cual, la población comprende principalmente células hospedadoras (es decir, que consiste esencialmente en) que comprenden el vector de expresión recombinante. La población también puede ser una población clonal de células, en la cual todas las células de la población son clones de una sola célula hospedadora que comprende un vector de expresión recombinante, de manera que todas las células de la población comprenden el vector de expresión recombinante. En una realización de la invención, la población de las células es una población clonal que comprende las células hospedadoras que comprenden un vector de expresión recombinante tal como se describe en el presente documento.

La divulgación se refiere además a un anticuerpo, o a una porción de unión al antígeno del mismo, el cual específicamente se une a una porción funcional de cualquiera de los TCR (o variante funcional del mismo) descritos en el presente documento. Preferentemente, la porción funcional se une de manera específica al antígeno del cáncer, por ejemplo, la porción funcional que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 3 o 13 (CDR1 de la cadena  $\alpha$ ), 4 o 14 (CDR2 de la cadena  $\alpha$ ), 5, 15, o 29 (CDR3 de la cadena  $\alpha$ ), 6 o 16 (CDR1 de la cadena  $\beta$ ), 7 o 17 (CDR2 de la cadena  $\beta$ ), 8, 18, o 30 (CDR3 de la cadena  $\beta$ ), SEQ ID NO: 9, 19, o 31 (región variable de la cadena  $\alpha$ ), SEQ ID NO: 10, 20, o 32 (región variable de la cadena  $\beta$ ), o una combinación de las mismas, por ejemplo, 3-5; 6-8; 3-8; 13-15; 16-18; 13-18; 3-4 y 29; 6-7 y 30; 3-4, 29, y 6-8; o 3-7 y 30; 3-4, 29, 6-7, y 30. Más preferentemente, la porción funcional comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-8 o las SEQ ID NO: 3-4, 29, y 6-8. En una realización preferida, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno del mismo, se une a un epítipo que está formado por todas las 6 CDR (CDR1-3 de la cadena alfa y CDR1-3 de la cadena beta). El anticuerpo puede ser de cualquier tipo de inmunoglobulina que se conoce en la técnica. Por ejemplo, el anticuerpo puede ser de cualquier isotipo, por ejemplo, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM, etc. El anticuerpo puede ser monoclonal o policlonal. El anticuerpo puede ser un anticuerpo de origen natural, por ejemplo, un anticuerpo aislado y/o purificado de un mamífero, por ejemplo, ratón, conejo, cabra, caballo, gallina, hámster, humano, etc. Como alternativa, el anticuerpo puede ser un anticuerpo genéticamente manipulado, por ejemplo, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico. El anticuerpo puede estar en una forma monomérica o polimérica. También, el anticuerpo puede tener cualquier nivel de afinidad o avidéz para la porción funcional del TCR de la invención (o la variante funcional del mismo). De manera deseable, el anticuerpo es específico para la porción funcional del TCR de la invención (o las variantes funcionales del mismo), de manera que exista una reacción cruzada mínima con otros péptidos o proteínas.

Los métodos de analizar la capacidad de unirse de los anticuerpos a cualquier porción funcional o variante funcional del TCR de la invención se conocen en la técnica e incluyen cualquier prueba de unión anticuerpo-antígeno, tal como, por ejemplo, radioinmunoanálisis (RIA), ELISA, análisis por transferencia de Western, inmunoprecipitación y ensayos de inhibición competitiva (véase, por ejemplo, Janeway et al., citado a continuación, y la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N.º 2002/0197266 A1).

Los métodos adecuados para generar anticuerpos se conocen en la técnica. Por ejemplo, los métodos de hibridoma convencionales se describen en, por ejemplo, Köhler y Milstein, *Eur. J. Immunol.*, 5, 511-519 (1976), Harlow y Lane (eds.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH Press (1988), y C.A. Janeway et al. (eds.), *Immunobiology*, 5ª Ed., Garland Publishing, Nueva York, NY (2001)). Como alternativa, otros métodos tales como los métodos de EBV-hibridoma (Haskard y Archer, *J. Immunol. Methods*, 74(2), 361-67 (1984), y Roder et al., *Methods Enzymol.*, 121, 140-67 (1986)), y los sistemas de expresión del vector bacteriófago (véase, por ejemplo, Huse et al., *Science*, 246, 1275-81 (1989)) son conocidos en la técnica. Además, los métodos para producir anticuerpos en los animales no humanos se describen en, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. 5.545.806, 5.569.825, y 5.714.352, y la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N.º 2002/0197266 A1.

Además, la presentación en fago puede usarse para generar el anticuerpo desvelado en el presente documento. En este sentido, las bibliotecas fago que codifican los dominios variables (V) de unión al antígeno de los anticuerpos pueden generarse usando técnicas convencionales de biología molecular y técnicas de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Sambrook et al. (eds.), *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3ª Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York (2001)). El fago que codifica una región variable con la especificidad deseada se selecciona para la unión específica al antígeno deseado y se reconstituye un anticuerpo parcial o completo que comprende el dominio variable seleccionado. Las secuencias de ácido nucleico que codifican el anticuerpo reconstituido se introducen en una línea celular apropiada, tal como una célula de mieloma para la producción de hibridoma, de manera que los anticuerpos que tienen las características de los anticuerpos monoclonales se secretan por la célula (véase, por ejemplo, Janeway et al., citado anteriormente, Huse et al., citado anteriormente, y la Patente de EE.UU. 6.265.150).

Los anticuerpos pueden producirse por los ratones transgénicos que son transgénicos para los genes específicos de inmunoglobulina de cadena ligera o de cadena pesada. Dichos métodos se conocen en la técnica y se describen en, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. 5.545.806 y 5.569.825, y Janeway et al., citado anteriormente.

Los métodos para generar los anticuerpos humanizados son bien conocidos en la técnica y se describen en detalle en por ejemplo, Janeway et al., citado anteriormente, las Patentes de EE.UU. 5.225.539, 5.585.089 y 5.693.761, la Patente Europea N.º 0239400 B1, y la Patente de Reino Unido N.º 2188638. Los anticuerpos humanizados también se generan usando la tecnología de rechapado del anticuerpo descrita en, por ejemplo, la Patente de EE.UU. 5.639.641 y Pedersen et al., *J. Mol. Biol.*, 235, 959-973 (1994).

La invención también proporciona las porciones de unión al antígeno de cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento. La porción de unión al antígeno puede ser cualquier porción que tiene al menos un sitio de unión al antígeno, tal como Fab, F(ab')<sub>2</sub>, dsFv, sFv, diacuerpos, y triacuerpos.

Un fragmento del anticuerpo del fragmento de la región variable de cadena simple (sFv), que consiste en un fragmento Fab truncado que comprende el dominio variable (V) de un anticuerpo de cadena pesada unido a un dominio V de una cadena ligera de anticuerpo a través de un péptido sintético, puede generarse usando técnicas habituales de tecnología de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Janeway et al., citado anteriormente). De manera similar, los fragmentos de la región de variable estabilizados con disulfuro (dsFv) pueden prepararse mediante la tecnología del ADN recombinante (véase, por ejemplo, Reiter et al., *Protein Engineering*, 7, 697-704 (1994)). Los fragmentos de anticuerpo de la invención, sin embargo, no se limitan a estos tipos ejemplares de fragmentos de anticuerpos.

También, el anticuerpo, o la porción de unión al antígeno del mismo, puede modificarse para que comprenda un marcador detectable, tal como, por ejemplo, un radioisótopo, un fluoróforo (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE)), una enzima (por ejemplo, fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante) y partículas de elementos (por ejemplo, partículas de oro).

Los TCR de la invención, polipéptidos, proteínas (incluyendo las variantes funcionales de los mismos), ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinante, células hospedadoras (incluyendo poblaciones de los mismos), y anticuerpos (incluyendo las porciones de unión al antígeno de los mismos), pueden aislarse y/o purificarse. El término "aislado", tal como se usa en la presente, significa que ha sido extraído de su ambiente natural. El término "purificado", tal como se usa en el presente documento significa que se ha incrementado en pureza, en donde "pureza" es un término relativo y no necesariamente se interpreta como pureza absoluta. Por ejemplo, la pureza puede ser al menos aproximadamente el 50 %, puede ser mayor que el 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, o puede ser el 100 %.

Los TCR de la invención, polipéptidos, proteínas (incluyendo las variantes funcionales de los mismos), los ácidos nucleicos, los vectores de expresión recombinantes, las células hospedadoras (incluyendo las poblaciones de las mismas), y los anticuerpos (incluyendo las porciones de unión al antígeno del mismo), todos de los cuales son referidos colectivamente como "materiales de TCR de la invención", en lo sucesivo en el presente documento, pueden formularse en una composición, tal como una composición farmacéutica. En este sentido, la invención proporciona una composición farmacéutica comprendiendo cualquiera de los TCR, polipéptidos, proteínas, porciones

funcionales, variantes funcionales, ácidos nucleicos, vectores de expresión, células hospedadoras (incluyendo las poblaciones de las mismas), y anticuerpos (incluyendo las porciones de unión al antígeno de los mismos), y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones de la invención que contienen cualquiera de los materiales de TCR de la invención pueden comprender más de un material de TCR de la invención, por ejemplo, un polipéptido, y un ácido nucleico, o dos o más TCR diferentes (incluyendo las porciones funcionales y las variantes funcionales de los mismos). Como alternativa, la composición farmacéutica puede comprender un material TCR de la invención en combinación con otros agentes o fármacos farmacéuticamente activos, tales como agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, asparaginasa, busulfán, carboplatin, cisplatina, daunorubicin, doxorubicin, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxiurea, metotrexato, paclitaxel, rituximab, vinblastina, vincristina, etc.

Preferentemente, el vehículo es un vehículo farmacéuticamente aceptable. Con respecto a las composiciones farmacéuticas, el vehículo puede ser cualquiera de aquellos convencionalmente usados para el material de TCR particular de la invención bajo consideración. Dichos vehículos farmacéuticamente aceptables son bien conocidos por los expertos en la materia y están fácilmente disponibles para el público. Se prefiere que el vehículo farmacéuticamente aceptable sea uno, el cual no tenga efectos colaterales en deterioro o toxicidad bajo las condiciones de uso.

La selección del vehículo se determinará en parte por el material de TCR de la invención particular, así como por el método particular usado para administrar el material de TCR de la invención. Por consiguiente, existe una variedad de formulaciones adecuadas de la composición farmacéutica de la invención. Las formulaciones adecuadas pueden incluir cualquiera de aquellas para la administración oral, en aerosol, parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal o intraperitoneal. Se puede usar más de una vía para administrar los materiales de TCR de la invención y en ciertos ejemplos, una vía particular puede proporcionar una respuesta más eficaz y más inmediata que la otra vía.

Preferentemente, el material de TCR de la invención se administra mediante inyección, por ejemplo, por vía intravenosa. Cuando el material de TCR de la invención es una célula hospedadora que expresa el TCR de la invención (o la variante funcional del mismo); el vehículo farmacéuticamente aceptable para las células para la inyección puede incluir cualquier vehículo isotónico, tal como por ejemplo, solución salina normal (aproximadamente 0,90 % en p/v de NaCl en agua, aproximadamente 300 mOsm/l de NaCl en agua o aproximadamente 9,0 g NaCl por litro de agua), solución de electrolitos NORMOSOL R (Abbott, Chicago, IL), PLASMA-LYTE A (Baxter, Deerfield, IL), aproximadamente el 5 % de dextrosa en agua o lactato Ringer. En una realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable se suplementa con albúmina de suero humano.

La composición farmacéutica además puede comprender TCR restringidos al MHC de Clase I o polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, o vectores de expresión recombinante que codifican los TCR restringidos al MHC de Clase I o las células hospedadoras o las poblaciones de las células que expresan los TCR restringidos al MHC de Clase I. Sin apegarse a una teoría particular, se cree que los linfocitos T CD8+ restringidos al MHC de Clase I aumentan la reactividad de los linfocitos T CD4+ restringidos al MHC de clase II y mejoran la capacidad de los linfocitos T CD4+ restringidos al MHC de clase II para tratar o prevenir el cáncer.

Para los fines de la invención, la cantidad o dosis (por ejemplo, números de células cuando el material de TCR de la invención es una o más células) del material de TCR de la invención administrado deberá ser suficiente para efectuar, por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica en un sujeto o animal en un periodo de tiempo razonable. Por ejemplo, la dosis del material de TCR de la invención debe ser suficiente para unirse a un antígeno de cáncer, o detectar, tratar o prevenir el cáncer en un período de aproximadamente 2 horas o más, por ejemplo, 12 a 24 o más horas, a partir del momento de la administración. En ciertas realizaciones, el período de tiempo podría ser incluso mayor. La dosis se determinará por la eficacia del material de TCR particular de la invención y la afección del animal (por ejemplo, humano), así como el peso corporal del animal (por ejemplo, humano) a tratar.

En la técnica se conocen muchos análisis para determinar una dosis de administración. Para los fines de la invención, un análisis que comprende comparar el grado en el que las células diana lisan o se secreta IFN- $\gamma$  por los linfocitos T que expresan el TCR de la invención (o la variante funcional o porción funcional del mismo), polipéptido, o proteína en la administración de una dosis dada de dichos linfocitos T para un mamífero entre un conjunto de mamíferos de los cuales a cada uno se le proporciona una dosis diferente de linfocitos T, podría usarse para determinar una dosis inicial que se va a administrar a un mamífero. El grado en que las células diana lisan o se secreta IFN- $\gamma$  en la administración de una cierta dosis puede analizarse por los métodos conocidos en la técnica.

La dosis del material de TCR de la invención también puede determinarse por la existencia, naturaleza y el grado de cualquier efecto colateral adverso que puede acompañar a la administración de un material de TCR particular de la invención. Típicamente, el médico tratante decidirá la dosis del material de TCR de la invención con el cual tratará a cada paciente individual, tomando en consideración una variedad de factores, tales como edad, el peso corporal, la salud en general, la dieta, el sexo, el material de TCR de la invención que se va a administrar, la vía de administración, y la gravedad de la afección que se está tratando. En una realización en la que el material de TCR de la invención es una población de células, el número de células administradas por infusión puede variar, por ejemplo, desde aproximadamente  $1 \times 10^6$  a aproximadamente  $1 \times 10^{11}$  células o más.

Un experto en la técnica rápidamente apreciará que los materiales de TCR de la invención pueden modificarse de muchas formas, de manera que la eficacia profiláctica o terapéutica de los materiales de TCR de la invención se incrementa a través de la modificación. Por ejemplo, los materiales de TCR de la invención pueden conjugarse ya sea directamente o indirectamente a través de un puente o una porción de señalización. La práctica de conjugar compuestos, por ejemplo, los materiales de TCR de la invención con las porciones de señalización se conoce en la técnica. Véase, por ejemplo, *J. Drug Targeting* 3: 111 (1995) y la Patente de EE.UU. 5.087.616. La expresión “porción de señalización” tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier molécula o agente que reconoce y se une de manera específica a un receptor de superficie celular, de manera que la porción de señalización dirige la administración de los materiales de TCR de la invención a una población de células en las cuales el receptor se expresa en su superficie. Las porciones de señalización incluyen, pero sin limitación, anticuerpos, o fragmentos de los mismos, péptidos, hormonas, factores de crecimiento, citocinas y cualquier otro ligando natural o no natural, el cual se une a los receptores de superficie celular (por ejemplo, Receptor del Factor de Crecimiento Epitelial (Epithelial Growth Factor Receptor, EGFR), receptor de linfocito T (TCR), receptor de linfocito B (B-Cell Receptor, BCR), CD28, Receptor del Factor de Crecimiento derivado de las Plaquetas (Platelet-Derived Growth Factor, PDGF), receptor de acetilcolina nicotínica (Nicotinic AcetylCholine Receptor, nAChR), etc.). El término “puente” tal y como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier agente o molécula que une a los materiales de TCR de la invención con la porción de señalización. Un experto en la técnica reconocerá que los sitios en los materiales de TCR de la invención, que no son necesarios para la función de los materiales de TCR de la invención, son sitios ideales para unirse a un puente y/o porción de señalización, con la condición de que el puente y/o porción de señalización, una vez unido a los materiales de TCR de la invención, no interfiera con la función de los materiales de TCR de la invención, por ejemplo, la capacidad para unirse a MAGE-A3 o MAGE-A6, o para detectar, tratar o prevenir el cáncer.

Se contempla que las composiciones farmacéuticas de la invención, los TCR (incluyendo las variantes funcionales de los mismos), los polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinante, las células hospedadoras, o las poblaciones de células pueden usarse en métodos para tratar o prevenir el cáncer. Sin apearse a una teoría particular, los TCR de la invención (y las variantes funcionales de los mismos) se cree que se unen específicamente a MAGE-A3 y/o MAGE-A6, de manera que el TCR (o el polipéptido de la invención relacionado o la proteína y las variantes funcionales de los mismos) cuando se expresa por una célula es capaz de mediar una respuesta inmune en contra de una célula diana que expresa MAGE-A3 o MAGE-A6. En este sentido, la invención proporciona un método para tratar o prevenir el cáncer en un mamífero, que comprende la administración a un mamífero de cualquiera de las composiciones farmacéuticas, TCR (y variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, o proteínas descritas en la presente, cualquier ácido nucleico o vector de expresión recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de los TCR (y las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, proteínas descritos en la presente o cualquier célula hospedadora o población de células que comprenden un vector recombinante que codifica cualquiera de los TCR (y las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, o proteínas descritas en el presente documento, en una cantidad eficaz para tratar o prevenir el cáncer en el mamífero.

En el presente documento se desvelan además los métodos de la invención para tratar o prevenir el cáncer que además pueden comprender la coadministración de los TCR restringidos al MHC de Clase I o polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, o vectores de expresión recombinante que codifican los TCR restringidos al MHC de clase I o las células hospedadoras o poblaciones de las células que expresan los TCR restringidos al MHC de clase I en el mamífero.

El término “tratar” o “prevenir” así como las palabras procedentes de las mismas, tal como se usan en el presente documento, no necesariamente implican el 100 % o del tratamiento o la prevención completa. Además, existen varios grados de tratamiento o prevención de los cuales un experto en la técnica reconocerá que tienen un posible beneficio terapéutico. En este sentido, los métodos de la invención pueden proporcionar cualquier cantidad de cualquier nivel de tratamiento o prevención del cáncer en un mamífero. Además, el tratamiento o prevención proporcionada por el método de la invención puede incluir el tratamiento o prevención de una o más afecciones o síntomas de la enfermedad, es decir, el cáncer que está siendo tratado o prevenido. También, para los fines del presente documento, “prevención” puede abarcar el retraso del inicio de la enfermedad, o un síntoma o afección de la misma.

También se proporciona un método para detectar la presencia del cáncer en un mamífero. El método comprende (i) poner en contacto una muestra que comprende células del cáncer con cualquier TCR de la invención (y variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinante, células hospedadoras, poblaciones de células, o anticuerpos o porciones de unión al antígeno de los mismos, descritos en el presente documento, formando así un complejo y detectando el complejo, en donde la detección del complejo es indicativa de la presencia de cáncer en el mamífero.

Con respecto al método de la invención para detectar el cáncer en un mamífero, la muestra de las células del cáncer puede ser una muestra que comprende las células completas, lisados de las mismas o una fracción de los lisados de la célula completa, por ejemplo, una fracción citoplásmica o nuclear, una fracción de proteína completa o una

fracción de ácido nucleico.

Para los fines del método de detección de la invención, el contacto puede llevarse a cabo *in vitro* o *in vivo* con respecto al mamífero. Preferentemente, el contacto es *in vitro*.

También, la detección del complejo puede ocurrir a través de cualquier número de formas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los TCR de la invención (y las variantes funcionales de los mismos), polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huéspedes, poblaciones de las células, o anticuerpos o porciones de unión al antígeno de los mismos, descritos en la presente, pueden etiquetarse con una etiqueta detectable tal como, por ejemplo, un radioisótopo, un fluoróforo (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE)), una enzima (por ejemplo, fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante), y partículas elementales (por ejemplo, partículas de oro).

Para los fines de los métodos de la invención, en donde se administran las células hospedadoras o las poblaciones de células, las células pueden ser células que son alogénicas o autólogas para un mamífero. Preferentemente, las células son autólogas para un mamífero.

Con respecto a los métodos de la invención, el cáncer puede ser cualquier cáncer, incluyendo cualquiera de los sarcomas (por ejemplo, sarcoma sinovial, sarcoma osteogénico, leiomiomasarcoma uteri, y rhabdomiomasarcoma alveolar), linfomas (por ejemplo, linfoma de Hodgkin y linfoma de no Hodgkin), carcinoma hepatocelular, glioma, cánceres de la cabeza (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cánceres del cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cáncer linfocítico agudo, leucemias (por ejemplo, leucemia mieloide aguda y leucemia linfocítica crónica), cáncer de huesos, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer del ano, del canal anal o anorrectal, cáncer del ojo, cáncer del conducto biliar intrahepático, cáncer de las articulaciones, cáncer del cuello, de la vejiga, o pleura, cáncer de la nariz, de la cavidad nasal o del oído medio, cáncer de la cavidad oral, cáncer de la vulva, cáncer mieloide crónico, cánceres del colon (por ejemplo, carcinoma del colon), cáncer esofágico, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, cáncer de la hipofaringe, cáncer de laringe, cáncer del hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cánceres de pulmón (es decir, carcinoma del pulmón de células no pequeñas), mesotelioma maligno, melanoma, mieloma múltiple, cáncer de la nasofaringe, cáncer de ovario, cáncer pancreático, peritoneo, omento y cáncer del mesenterio, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer rectal, cánceres del riñón (por ejemplo, carcinoma celular renal), cáncer del intestino delgado, cáncer del tejido blando, cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer de la tiroides y cánceres uroteliales (por ejemplo, cáncer de la uretra y cáncer de la vejiga urinaria). Preferentemente, el cáncer es melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, sarcoma celular sinovial, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago o cáncer de ovario.

El mamífero referido en los métodos de la invención puede ser cualquier mamífero. Tal y como se usa en el presente documento, el término "mamífero" se refiere a cualquier mamífero, incluyendo, pero sin limitación, mamíferos del orden Rodentia, tales como ratones y hámsteres y mamíferos del orden Logomorfa, tales como conejos. Se prefiere que los mamíferos sean del orden Carnívoro, incluyendo Felinos (gatos) y Caninos (perros). Es más preferido que los mamíferos sean del orden Artiodáctilo, incluyendo Bovinos (vacas) y Cerdos (puercos) o del orden Perisodáctilo, incluyendo Equinos (caballos). Es más preferido que los mamíferos sean del orden Primates, Ceboideos o Simioides (monos) o del orden Antropoide (humanos y simios). Un mamífero especialmente preferido es el humano.

Los siguientes ejemplos además ilustran la invención, pero, por supuesto, no deben interpretarse como limitantes en ninguna manera de su alcance.

EJEMPLO 1A

Este ejemplo demuestra el aislamiento de los TCR de los clones de linfocitos T.

El clon efector anti-MAGE-A3<sup>243-258</sup> CD4+ R12C9 y el clon anti-MAGE-A3<sup>243-258</sup> Treg 6F9 se cultivó con el péptido de los linfocitos B de EBV pulsados con (MAGE-A3<sup>243-258</sup>). Se midió la secreción de citocina, el porcentaje de las células indicadoras suprimidas, el porcentaje de las células FOXP3+ Treg y el porcentaje de las secuencias FOXP3 no metiladas. Las secuencias del intrón 1 FOXP3 no metiladas se consideraron como un marcador para un fenotipo Treg estable. Los resultados para los clones 6F9 y R12C9 se muestran en las Tablas 1A y 1B.

TABLA 1A

Clon	% de las células indicadoras suprimidas	% FOXP3+	% de las secuencias FOXP3 no metiladas
6F9	57	95	72
R12C9	0	8	2

TABLA 1B

Clon	Secreción de citocina (pg/25.000 células)					
	IFN-γ	IL-2	IL-10	IL-4	IL-5	TNF-α

6F9	0	0	0	0	0	12
R12C9	922	46	479	8	28	422

Los clones de Treg pueden inhibir la proliferación de las células indicadoras después de la estimulación por un péptido apropiado. Como se muestra en la Tabla 1A, el clon 6F9 es un clon de Treg.

- 5 Se clonó un TCR que comprende las SEQ ID NO: 21 y 22 del clon efector anti-MAGE-A3<sub>243-258</sub> CD4+ R12C9 ("R12C9 TCR"). Se clonó un TCR que comprende las SEQ ID NO: 11 y 12 del clon anti-MAGE-A3<sub>243-258</sub> Treg 6F9 ("TCR 6F9").

EJEMPLO 1B

- 10 Este ejemplo demuestra la eficiencia de la transducción del PBMC transducido con una secuencia de nucleótidos que codifica el 6F9 TCR o R12C9 TCR del Ejemplo 1.

- 15 Los transcritos que codifican la cadena beta y alfa de los TCR de R12C9 y 6F9 se unieron con las secuencias que codifican el péptido de autoescisión P2A y se clonaron en un vector retroviral MSGV1. Los PBMC de tres pacientes se estimularon con OKT3, se transdujeron con suplementos retrovirales transitorios en el día dos, y se enriquecieron para los linfocitos T CD4+ en el día siete. Los niveles de la expresión TCR se evaluaron por el marcado de las células transducidas con anti-Vβ22 o Vβ6.7, el cual detectó el 6F9 o R12C9 TCR, respectivamente. El análisis de PBMC del paciente 1 indicó que entre 25 y 35% de las células T se transdujeron con los TCR individuales y los niveles de transducción similar se obtuvieron con el PBMC de los pacientes 2 y 3.

EJEMPLO 2

- 25 Este ejemplo demuestra que los linfocitos T transducidos con las secuencias de nucleótidos que codifican los TCR anti-MAGE-A3<sub>243-258</sub> del Ejemplo 1 reconocen el transactivador-293 del complejo principal de histocompatibilidad de clase II (CIITA) de los transfectantes de MAGE-A3 y las dianas de los péptidos pulsados. Este Ejemplo también demuestra que el TCR 6F9 reconoce los transfectantes 293-CIITA de MAGE-A3 y MAGE-A6.

- 30 Los linfocitos CD4+ de sangre periférica enriquecidos (PBL) de dos donadores humanos no se transdujeron (UnTransduced, UT) o se transdujeron con TCR F5 (anti-MART-1), TCR R12C9, o TCR 6F9. Las células se cultivaron con células diana 293-CIITA-transfectadas con el péptido MAGE-A3<sub>243-258</sub> (SEQ ID NO: 2) pulsado. Las células 293-CIITA son células 293 transducidas con CIITA, que es un gen humano que codifica la proteína transactivadora del complejo principal de histocompatibilidad de clase II. Los resultados obtenidos con las células transducidas con TCR 6F9 y R12C9 se muestran en la Tabla 2 y la Figura 10A. El PBL transducido por TCR R12C9 o TCR 6F9 reconoce las células diana MAGE-A3<sub>243-258</sub> HLA-DP\*0401+ con el péptido pulsado. La titulación del péptido MAGE-A3<sub>243-258</sub> indicó que los linfocitos T CD4+ transducidos con los TCR 6F9 o R12C9 TCR de liberaron niveles comparables de IFN-γ en respuesta a las dianas pulsadas con un mínimo de entre 0,001 y 0,01 mg/ml del péptido MAGE-A3<sub>243-258</sub>. Los experimentos se repitieron usando el PBL de un tercer donante humano y se obtuvieron resultados similares.

40

TABLA 2

Donante 1				
		IFN-gamma (pg/ml)		
293-CIITA + MAGE-A3 <sub>243-258</sub>	DP4+	Péptido (µg/ml)	No transducido (UT)	TCR 6F9 transducido
		0,0001	2	328
		0,001	17	596
		0,01	4	1609
		0,1	2	7440
		1	4	34800
		10	0	52100
Donante 2				
		IFN-gamma (pg/ml)		
293-CIITA + MAGE-A3 <sub>243-258</sub>	DP4+	Péptido (µg/ml)	No transducido (UT)	TCR 6F9 transducido
		0,0001	28	110
		0,001	30	323
		0,01	37	1830
		0,1	40	9760
		1	44	55000
		10	0	59050

Las células diana 293-CIITA se transfectaron con las construcciones de ADN (vector pCADN3) que codifican la

proteína MAGE-A3 o la proteína MAGE-A6 de longitud completa, la cual difiere en solamente una sola posición (249), o la proteína de longitud completa MAGE-A1 o la proteína MAGE-A12. El PBL no transducido y transducido se cocultivó con las células 293-CIITA transfectadas y se midió la secreción del interferón gamma (IFN). Los resultados se muestran en las Figuras 1A, 1B, y 10A.

Como se muestra en las Figuras 1A, 1B, y 10A, aunque los linfocitos T transducidos con TCR R12C9 y TCR 6F9 reconocieron las dianas con péptido pulsado, los PBL transducidos con el TCR 6F9 fueron las más altamente reactivas para cada uno de los transfectantes MAGE-A3 y MAGE-A6 293-CIITA. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> transducidos con el 6F9, pero no el TCR R12C9 reconocieron las células HLA DP\*0401<sup>+</sup> 293-CIITA transfectadas con los genes que codifican MAGE-A3 o MAGE-A6, pero no MAGE-A1 o A12. La comparación de las secuencias de aminoácidos de las regiones correspondientes de los miembros de la familia MAGE indicaron que el MAGE-A3 y MAGE-A6 solamente difieren en una posición (resto 249), mientras los otros miembros de la familia MAGE difieren de MAGE-A3 en dos (MAGE-A12<sub>243-258</sub> (SEQ ID NO: 70)) o tres posiciones (MAGE-A1<sub>243-258</sub> (SEQ ID NO: 71)). Además, los linfocitos T CD4<sup>+</sup> transducidos con el TCR 6F9, pero no el TCR R12C9 reconocieron la línea celular del melanoma MAGE-A3<sup>+</sup>/HLA-DP\*0401<sup>+</sup> 1359 mel-CIITA pero fallaron en reconocer la línea celular del melanoma MAGE-A3<sup>+</sup>/HLA-DP\*0401 624 mel-CIITA. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> con el TCR R12C9 fallaron en reconocer alguna de las líneas celulares del melanoma probado. Las células transducidas con el TCR DMF5 MART-1 reactivo fallaron en reconocer las células 293-CIITA transfectadas o las células diana pulsadas MAGE-A3<sub>243-258</sub>, pero reconocieron la línea celular HLA-A\*0201<sup>+</sup> y MART-1<sup>+</sup> 624 mel-CIITA. Los experimentos se repitieron usando PBL de un tercer donante humano y se obtuvieron resultados similares. Dado que el TCR 6F9 se obtuvo de un clon de Treg, el cual está involucrado en la supresión de la actividad inmune, la reactividad del TCR 6F9 fue sorprendente e inesperada. Estos resultados indicaron que mientras los linfocitos T CD4<sup>+</sup> transducidos con el 6F9 o R12C9 reconocieron las células diana de péptido pulsado, solamente las células transfectadas con el TCR 6F9 reconocieron las células diana transfectadas así como las células tumorales MAGE-A3<sup>+</sup> y HLA-DP\*04<sup>+</sup>.

EJEMPLO 3

Este ejemplo demuestra que los PBL 6F9 transducidos muestran alta reactividad para la proteína de longitud completa MAGE-A3 procesada y presentada por las células HLA-DP4+ B.

Los PBL de los dos donantes humanos no se transdujeron o se transdujeron con una secuencia de nucleótidos que codifica el TCR 6F9. Las células se cocultivaron con las células HLA-DP4+ B que tuvieron la proteína de longitud completa procesada y presentada MAGE-A3 (SEQ ID NO: 1). Los resultados se muestran en la Tabla 3 y la Figura 10A. Como se muestra en la Tabla 3 y la Figura 10A, los PBL 6F9 transducidos fueron altamente reactivos para la proteína de longitud completa MAGE-A3 procesada y presentada por las células HLA-DP4+ B.

TABLA 3

Donante 1			IFN-γ (pg/ml)	
Linfocitos B + MAGE-A3 de longitud completa	DP4	MAGE-A3 (μg/ml)	No transducido (UT)	TCR 6F9 transducido
	+	10	360	23640
	+	1	420	12440
	+	0,1	358	2360
	+	0,01	362	580
	+	0,001	343	427
	+	0,0001	349	387
	+	0	343	405
Linfocitos B + NY-ESO-1 de longitud completa	+	10	313	363
Donante 2			IFN-γ (pg/ml)	
Linfocitos B + MAGE-A3 de longitud completa	DP4	MAGE-A3 (μg/ml)	No transducido (UT)	TCR 6F9 transducido
	+	10	2080	63100
	+	1	1810	21270
	+	0,1	1382	3590
	+	0,01	1519	685
	+	0,001	1297	470
	+	0,0001	1568	542
	+	0	1351	404
Linfocitos B + NY-ESO-1 de longitud completa	+	10	1549	530

## EJEMPLO 4

- 5 Este ejemplo demuestra que los PBL con TCR 6F9 transducido son reactivos para las líneas tumorales con la presentación endógena de clase II de la proteína MAGE-A3.

10 El PBL de dos donantes humanos no fue transducido o fue transducido con una secuencia de nucleótidos que codifican al TCR 6F9 o TCR F5. Las células se cultivaron solas (solamente linfocitos T) o se cocultivaron con las células 624-CIITA, las células 526-CIITA o las células H1299-CIITA (líneas celulares tumorales con CIITA). Los resultados se muestran en la Tabla 4. Como se muestra en la Tabla 4, los PBL con TCR 6F9 transducido fueron reactivos para las líneas tumorales con la presentación de la clase II endógena de la proteína MAGE-A3.

TABLA 4

Donante 1			IFN-gamma (pg/ml)		
	DP4	MAGE A3	No transducido	F5 transducido	6F9 transducido
624-CIITA	-	+	223	1483	238
526-CIITA	+ (DP4 0401)	+	636	2360	1314
H1299-CIITA	+ (DP4 0401)	+	284	243	4330
solamente linfocitos T			131	45	112
Donante 2			IFN-gamma (pg/ml)		
	DP4	MAGE A3	No transducido	F5 transducido	6F9 transducido
624-CIITA	-	+	819	1435	153
526-CIITA	+	+	117	2530	1339
H1299-CIITA	+	+	147	172	3630
solamente linfocitos T			65	27	88

- 15 EJEMPLO 5
- Este ejemplo demuestra que el TCR 6F9 es específico de MAGE-A3.
- 20 El PBL de un donante humano fue enriquecido en CD4+ y el número de células se expandió rápidamente en el día 27. Las células no se transdujeron o se transdujeron con el TCR F5 o el TCR 6F9 y se cocultivaron con las células 526-CIITA o las células H1299-CIITA solas o con ARNip de anti-MAGE-A3 o ARNip de anti-MART-1. Se midió la secreción de IFN-gamma. Los resultados se muestran en las Figuras 2A y 2B.
- 25 Como se muestra en las Figuras 2A y 2, el ARNip de anti-MAGE-A3 redujo la actividad de las células transducidas con TCR 6F9. Por consiguiente, el análisis de inactivación de ARNip confirmó que el TCR 6F9 es específico de MAGE-A3.

## EJEMPLO 6

- 30 Este ejemplo demuestra que el TCR 6F9 reconoce al MAGE-A3 en una manera restringida a HLA-DP.

35 Las líneas tumorales 624, 526, 1359, H1299, 1300, 1764, 3071, 397, 2630, y 2984 se transdujeron con CIITA (624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 1300-CIITA, 1764-CIITA, 3071-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, y 2984-CIITA) y la expresión HLA-DP se midió mediante citometría de flujo. La expresión de DP4 y MAGE-A3 se muestra en la Tabla 5A.

TABLA 5A

Línea Celular Tumoral Transducida	DP4	MAGE-A3
624-CIITA	-	+
1300-CIITA	-	+
3071-CIITA	0402	+
Whittington-CIITA	0401	-
526-CIITA	0401	+
1359-CIITA	0401	+
H1299-CIITA	0401	+
397-CIITA	0401	+

2630-CIITA	0401	+
2984-CIITA	0401	+

5 El PBL con 6F9 transducido se cultivó solo (solamente linfocitos T) o se cocultivó con células 3071, células 3071-CIITA, células 397, células 397-CIITA, células 2630, células 2630-CIITA, células 2984 y células 2984-CIITA. Se midió la secreción de IFN-gamma. Los resultados se muestran en la Figura 3. Como se muestra en la Figura 3, el PBL con 6F9 transducido fue reactivo con las líneas celulares tumorales que expresan CIITA.

10 El TCR 6F9 además se evaluó mediante la determinación de la reactividad de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> separados de los PBMC de dos pacientes frente a las líneas celulares tumorales incluyendo 624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, SK37-CIITA, 1764-CIITA, 3071-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, y 2984-CIITA. Cinco líneas celulares del melanoma que expresaron MAGE-A3 y HLA-DP\*0401 (2630-CIITA, 397-CIITA, 2984-CIITA, 526-CIITA, y 1359-CIITA), así como la línea celular del carcinoma de pulmón de células no pequeñas H1299 NSCLC-CIITA fueron reconocidas por los linfocitos T CD4<sup>+</sup> y T CD8<sup>+</sup> transducidos, aunque los linfocitos T CD4<sup>+</sup> secretaron mayores cantidades de citocina en respuesta a las dianas tumorales que los linfocitos T CD8<sup>+</sup> transducidos.

15 Las células H1299-CIITA y 526-CIITA se transfectaron con ARNip anti-HLA-DP o anti-HLA-DR para inactivar la expresión de HLA-DP o HLA-DR. Las células 3071-CIITA y 526-CIITA se transfectaron con ARNip anti-HLA-DQ para inactivar la expresión de HLA-DQ. La inactivación HLA-DP, HLA-DR, o HLA-DQ se confirmó por citometría de flujo.

20 El PBL de un donante humano se enriqueció en CD4<sup>+</sup> y el número de células se expandió rápidamente en el día 30. Las células se transdujeron con el TCR 6F9 o no se transdujeron. Las células se cultivaron solas (solamente linfocitos T) o se cocultivaron con las células H1299-CIITA no tratadas, las H1299-CIITA se transfectaron con ARNip anti-HLA-DP o anti-HLA-DR, las células 526-CIITA no tratadas, o 526-CIITA transfectadas con ARNip anti-HLA-DP o anti-HLA-DR. Se midió la secreción de IFN-gamma. Los resultados se muestran en la Figura 4. Como se muestra en la Figura 4, el ARNip anti-HLA-DP redujo la actividad de las células transducidas con TCR 6F9.

25 Los estudios adicionales empleando anticuerpos confirmaron que el TCR 6F9 reconoce el MAGE-A3 en de manera restringida a HLA-clase II. El PBL transducido con TCR 6F9 se cocultivó con las células establecidas en la Tabla 5B y se bloqueó con los anticuerpos establecidos en la Tabla 5B. El IFN-gamma se midió y los resultados se establecen en la Tabla 5B.

30

TABLA 5B

PBL con TCR 6F9 transducido cocultivado con:	Bloqueado con el anticuerpo:	IFN-gamma (pg/ml)
293-CIITA (DP4+) transfectado con el gen MAGE-A3	W6/32 (α-HLA clase I)	>10,000
	HB22 (α-HLA clase DR)	>10,000
	IVA12 (α-HLA clase II)	902
Células Allen B (A2+ DP4+) incubadas con proteína MAGE-A3	W6/32 (α-HLA clase I)	15038
	HB22 (α-HLA clase DR)	16599
	IVA12 (α-HLA clase II)	129
SK37 CIITA (A2+ DP4+ MAGE-A3+)	W6/32 (α-HLA clase I)	1965
	HB22 (α-HLA clase DR)	6248
	IVA12 (α-HLA clase II)	674
H1299 CIITA (A2- DP4+ MAGE-A3+)	W6/32 (α-HLA clase I)	2684
	HB22 (α-HLA clase DR)	7888
	IVA12 (α-HLA clase II)	0
1764 RCC CIITA (A2-DP4+ MAGE-A3-)	W6/32 (α-HLA clase I)	0
	HB22 (α-HLA clase DR)	0
	IVA12 (α-HLA clase II)	0

35 Como se muestra en la Tabla 5B, los estudios de bloqueo de anticuerpos mostraron que el TCR 6F9 reconoce el MAGE-A3 de manera restringida al HLA Clase II, pero no de manera restringida al HLA-DR o de manera restringida al HLA de clase I.

EJEMPLO 7

40 Este ejemplo demuestra que una sustitución de alanina en la posición 116 o 117 de la cadena alfa del TCR 6F9 incrementa la reactividad del TCR 6F9.

Se prepararon ocho TCR diferentes sustituidos, cada uno teniendo solo la sustitución de alanina en una diferente ubicación en la región CDR3 del TCR 6F9, tal como se establece en la Tabla 6.

TABLA 6

Nombre	Descripción	SEQ ID NO:
a1	Sustitución de alanina en la posición 116 de la cadena alfa (S116A)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a2	Sustitución de alanina en la posición 117 de la cadena alfa (S117A)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a3	Sustitución de alanina en la posición 118 de la cadena alfa (G118A)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Ala, y Xaa en 119 es Thr
a4	Sustitución de alanina en la posición 119 de la cadena alfa (T119A)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala
b1	Sustitución de alanina en la posición 115 de la cadena beta (R115A)	SEQ ID NO: 11 (tipo silvestre (ts) cadena alfa) y SEQ ID NO: 34, en donde Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro
b2	Sustitución de alanina en la posición 116 de la cadena beta (T116A)	SEQ ID NO: 11 (tipo silvestre (ts) cadena alfa) y SEQ ID NO: 34, en donde Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro
b3	Sustitución de alanina en la posición 117 de la cadena beta (G117A)	SEQ ID NO: 11 (tipo silvestre (ts) cadena alfa) y SEQ ID NO: 34, en donde Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Ala, y Xaa en 118 es Pro
b4	Sustitución de alanina en la posición 118 de la cadena beta (P118A)	SEQ ID NO: 11 (tipo silvestre (ts) cadena alfa) y SEQ ID NO: 34, en donde Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Ala

5 El PBL de un donante humano no fue transducido o fue transducido con TCR 6F9 de tipo silvestre (ts) o uno de cada uno de los ocho TCR sustituidos en la Tabla 6. Las células se cultivaron solas (solamente linfocitos T) o se cocultivaron con 624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, o 1764-CIITA. Se midió la secreción de IFN-gamma. Los resultados se establecieron en la Figura 5. Como se muestra en la Figura 5, los TCR a1 y a2 sustituidos demostraron reactividad incrementada en comparación con el TCR 6F9 de ts.

10 Un experimento separado con PBL enriquecido en CD4+ transducido también confirmó la mayor reactividad de los TCR a1 y a2 sustituidos (Figura 6). Como se muestra en la Figura 6, los TCR a1 y a2 sustituidos mostraron un incremento aproximadamente de 2 veces en la actividad antitumoral en comparación con el TCR 6F9 de ts. Los TCR a1 y a2 sustituidos también mostraron mejor enlace al tetrámero (SEQ ID NO: 2) en comparación con el TCR 6F9 de ts, tal como se mide por citometría de flujo.

15 EJEMPLO 8

Este ejemplo demuestra la reactividad de los TCR 6F9 sustituidos.

20 Se prepararon ocho de los TCR diferentes sustituidos, cada uno teniendo la sustitución del aminoácido en una diferente ubicación en la región CDR3 de la cadena alfa del TCR 6F9, tal como se establece en la Tabla 7.

TABLA 7

Nombre	Descripción	SEQ ID NO:
a1-1	Sustitución de leucina en la posición 116 de la cadena alfa (S116L)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Leu, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a1-2	Sustitución de isoleucina en la posición 116 de la cadena alfa (S116I)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ile, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a1-3	Sustitución de valina en la posición 116 de la cadena alfa (S116V)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a1-4	Sustitución de metionina en la posición 116 de la cadena alfa (S116M)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Met, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a2-1	Sustitución de leucina en la posición 117 de la cadena beta (S117L)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Leu, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a2-2	Sustitución de isoleucina en la posición 117 de la cadena beta (S117I)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ile, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a2-3	Sustitución de valina en la posición 117 de la cadena beta (S117V)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Val, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr
a2-4	Sustitución de metionina en la posición 117 de la cadena beta (S117M)	SEQ ID NO: 12 (tipo silvestre (ts) cadena beta) SEQ ID NO: 33 (cadena alfa sustituida), en donde Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Met, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr

El PBL de un donante humano no fue transducido o fue transducido con TCR 6F9 de tipo silvestre (ts) de cada uno de los ocho TCR sustituidos. Las células se cultivaron solas (solamente linfocitos T) o se cocultivaron con 624-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, o 1764-CIITA. Se midió la secreción de IFN-gamma. Los resultados se establecen en la Figura 7. Como se muestra en la Figura 7, los TCR  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 1-3$  sustituidos demostraron reactividad frente a las líneas celulares tumorales CIITA.

#### EJEMPLO 9

Este ejemplo demuestra que la sustitución de la región constante natural del TCR 6F9 con una región constante de murino incrementa la reactividad del TCR 6F9.

Se preparó un TCR se preparó que comprende las regiones variables de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  TCR 6F9 de ts y una región constante de murino (TCR 6F9mC) (SEQ ID NO: 27 y 28).

El TCR 6F9mC demostró mejor tetrámero MAGE-A3 y tinción de V $\beta$  en comparación con el TCR 6F9 de ts, tal como se midió mediante citometría de flujo. Sin apearse a una teoría en particular, se cree que el TCR 6F9mC TCR proporciona un apareamiento mejorado de las cadenas de TCR  $\alpha$  y  $\beta$ .

El PBL de un donador humano no fue transducido o fue transducido con TCR 6F9 de ts o TCR 6F9mC y se cultivó solo (solamente linfocitos T) o se cocultivó con células 624-CIITA, 1300-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, o 1764-CIITA. Se midió la secreción de IFN-gamma. Los resultados se muestran en la Figura 8. Como se muestra en la Figura 8, las células transducidas con 6F9mC mostraron un incremento de 2-5 veces en una actividad antitumoral en comparación con las células transducidas con TCR 6F9 de ts.

Las células no transducidas, las células transducidas con TCR 6F9 o las células transducidas con 6F9mC TCR se enriquecieron para CD8 o CD4 y se cultivaron solas (solamente linfocitos T) o se cocultivaron con células 624-CIITA, SK37-CIITA, 526-CIITA, 1359-CIITA, H1299-CIITA, 397-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, 3071-CIITA, o 1764-CIITA. Se midió la secreción de interferón-gamma. Los resultados se muestran en las Figuras 9A y 9B. Como se muestra en las Figuras 9A y 9B, las células transducidas con 6F9mC y enriquecidas en CD8 y CD4 mantuvieron mayor actividad antitumoral en comparación con las células transducidas con TCR 6F9 para varias líneas celulares, indicando una alta afinidad para el TCR 6F9mC independiente de los correceptores. Los experimentos se repitieron usando PBL de un segundo donante humano y se obtuvieron resultados similares. Las comparaciones de las respuestas de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> transducidas con TCR 6F9 de tipo silvestre (ts) con aquellas células transducidas con el TCR 6F9mC indicaron que las regiones constantes de murino dieron como resultado una mejora de dos a cinco veces en la respuesta de los linfocitos T transducidos frente a las siete dianas de MAGE-A3<sup>+</sup> y HLA-DP\*0401<sup>+</sup> que se evaluaron. Además, la respuesta de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> transducidos con el 6F9m se mejoró por entre dos y diez veces por encima de aquellas observadas en las células transducidas con el TCR 6F9 de ts. Las respuestas de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> transducidos con el 6F9mC fueron generalmente inferiores que los linfocitos T CD4<sup>+</sup> transducidos con este TCR, aunque se observaron respuestas de citocina similares en las respuestas a algunas dianas tumorales.

#### EJEMPLO 10

Este ejemplo demuestra que, en la estimulación tumoral, las células transducidas con TCR 6F9mC producen altos niveles de IFN-gamma y TNF-alfa y muestran un fenotipo altamente activado (tal como se mide por la expresión elevada de 4-1BB, CD25, y CD69).

Las células CD4 o CD8 fueron enriquecidas y transducidas con TCR 6F9mC. Las células transducidas se cocultivaron con las líneas tumorales 624-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, o Whittington-CIITA durante 6 horas y entonces se tiñeron para IFN-gamma intracelular, interleuquina (IL)-2, o factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ . Las células transducidas con TCR 6F9mC TCR mostraron producción de IF-gamma intracelular específica en la estimulación tumoral. Las células transducidas con TCR 6F9mC mostraron producción de IL-2 detectable y producción de TNF- $\alpha$  alta específica en la estimulación tumoral en la fracción enriquecida con CD4.

Las células fueron enriquecidas en CD4 y transducidas con TCR 6F9mC. Las células transducidas se cocultivaron con las líneas tumorales 624-CIITA, 2630-CIITA, 2984-CIITA, o Whittington-CIITA durante la noche y posteriormente se tiñeron para 4-1BB, CD25, y CD69. Durante la estimulación tumoral durante la noche, la mayoría de las células transducidas con TCR 6F9mC expresaron altos niveles de 4-1BB (indicativas de activación específica de antígeno), CD25, y CD69.

#### EJEMPLO 11

Este ejemplo demuestra que el TCR 6F9 media el reconocimiento de la célula tumoral.

El PBL fue no transducido o fue transducido con el TCR 6F9 de tipo silvestre y cultivado solo o cocultivado con la línea celular de cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) H11299 o la línea celular del melanoma 526 mel, 624 mel, o 1359 mel. La expresión de MAGE-A3 y DP\*04 se muestra en la Tabla 8.

5

Línea celular	MAGE-A3	DP*04
H1299 NSCLC	+	+
526 mel	+	+
624 mel	+	-
1359 mel	+	-

Se midió la expresión de IFN-gamma. Los resultados se muestran en la Figura 10B. Como se muestra en la Figura 10B, el TCR 6F9 media el reconocimiento de la célula tumoral.

## 10 EJEMPLO 12

Este ejemplo demuestra que el TCR 6F9 y el 6F9mc poseen un alto grado de especificidad para el péptido MAGE-A3:<sub>248-258</sub>.

15 Para evaluar la fina especificidad del reconocimiento del antígeno mediado por las células transducidas con el TCR 6F9 y 6F9mc, las células diana HLA-DP\*0401<sup>+</sup> se pulsaron con el truncamiento del péptido MAGE-A3:<sub>243-258</sub> o los péptidos relacionados de los miembros de la familia MAGE. Los linfocitos T CD4<sup>+</sup> aislados de PBMC de dos pacientes (PBMC-1 o PBMC-2) por la selección negativa se transdujeron con el TCR 6F9, el TCR 6F9mc, o no fueron transducidos y 10 días después de la estimulación con OKT3 se analizó su respuesta a las células 293-CIITA que se pulsaron con 10 mg/ml de los péptidos indicados en la Tabla 9.

El análisis de la respuesta para los péptidos MAGE-A3 truncados de dos cultivos de CD4<sup>+</sup> PBMC transducidos indicó que el péptido 11-mero QHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 54) correspondiente a los aminoácidos 248-258 de la proteína MAGE-A3 representó el péptido mínimo que provocó una respuesta comparable a la generada por el péptido MAGE-A3:<sub>243-258</sub> (Tabla 9). El péptido MAGE-A3:<sub>243-258</sub> se pronosticó usando un algoritmo de predicción de epítipo para poseer una alta afinidad para HLA-DP\*0401, y además, el reconocimiento de los péptidos MAGE-A3 truncados pareció correlacionarse con el reconocimiento del linfocito T (Tabla 9). Se observó reconocimiento significativo para el péptido MAGE-A6:<sub>248-258</sub> que contuvo una sola sustitución de histidina por tirosina en la posición 249, pero se observó reactividad mínima en contra de los miembros adicionales de la familia MAGE de los productos génicos que poseen entre dos y cinco diferencias del péptido MAGE-A3:<sub>248-258</sub>. Una búsqueda BLAST de la base de datos del NCBI reveló que la mayoría del péptido estrechamente relacionado se derivó de la proteína necdina. Este péptido, que posee cinco diferencias con el péptido MAGE-A3:<sub>248-258</sub>, tampoco fue reconocido por los linfocitos T transducidos con el TCR 6F9 o 6F9mc. Estos hallazgos indican que el TCR 6F9 posee un alto grado de especificidad para el péptido MAGE-A3:<sub>248-258</sub> y sugiere que los linfocitos T transducidos con este TCR poseen poca o ninguna reactividad cruzada con los péptidos derivados de las proteínas de humano adicionales.

35

TABLA 9

Gen (posición)	SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	PEMC-1 transducido con:			PEMC-2 transducido con:			Afinidad predicha (nM)
			6F9	6F9mc	Ninguno	6F9	6F9mc	Ninguno	
MAGE-A3:243-258	2	KKLLTQHFVQENYLEY	10,220	15,210	33	10,350	17,520	45	3
MAGE-A3:243-256	47	KKLLTQHFVQENYL	1,018	1,815	72	1,670	2,490	78	323
MAGE-A3:243-255	48	KKLLTQHFVQENY	76	137	29	111	117	71	378
MAGE-A3:243-254	49	KKLLTQHFVQEN	28	0	67	30	39	78	466
MAGE-A3:243-253	50	KKLLTQHFVQE	0	40	38	30	45	90	2444
MAGE-A3:245-258	51	LLTQHFVQENYLEY	9,290	14,970	84	8,920	17,820	74	3
MAGE-A3:246-258	52	LTQHFVQENYLEY	7,140	12,700	56	9,200	16,170	76	3
MAGE-A3:247-258	53	TQHFVQENYLEY	6,710	10,600	30	6,810	13,280	41	3
MAGE-A3:248-258	54	QHFVQENYLEY	6,220	9,000	52	7,400	8,700	56	4
MAGE-A3:249-258	55	HFVQENYLEY	669	1,643	57	922	2,034	66	5
MAGE-A6:248-258	56	QYFVQENYLEY	6,440	11,800	54	13,200	8,370	127	3
MAGE-A2/A12:248-258	57	QDLVQENYLEY	33	66	49	37	56	65	59
MAGE-A4/A9:249-259	58	QDWVQENYLEY	0	23	32	22	26	62	92
MAGE-A8:251-261	59	QEWVQENYLEY	43	58	79	39	41	55	87
MAGE-A1/B4:241-251	60	QDLVQEKYLEY	129	126	55	108	84	53	16
MAGE-B2:250-260	61	KDLVQEKYLEY	0	0	43	7	20	38	16
MAGE-B10:250-260	62	KDLVKENYLEY	22	18	69	28	34	66	105

			PEMC-1 transducido con:			PEMC-2 transducido con:			Predicha
			6F9	6F9mc	Ninguno	6F9	6F9mc	Ninguno	
	63	KDFVKEKYLEY	0	27	16	11	28	42	3
MAGE-B16:252-262									
	64	KWVQEHYLEY	9	0	30	25	27	30	35
MAGE-C1:113-123									
	65	RKLITDDFVKQKYLEY	193	234	81	194	268	80	6
MAGE-D4:300-315									
	66	KKLITDEFVKQKLYDY	82	43	56	226	223	71	8
MAGE-D2:413-428									
	67	KKLITEVFVRQKYLEY	45	56	58	78	107	114	6
MAGE-L2:582-597									
	68	KKLITDEFVRQRYLEY	0	29	68	25	33	62	3
MAGE-G1:220-235									
	69	EEFVQMNLYKY	0	22	59	21	32	83	13
Necdin:237-247									
			0	5	58	15	25	59	
Sin péptido									

El uso de los términos “uno” y “un”, y “el” y “al menos uno” y los referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse que abarca tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra manera en el presente documento o se contradigan claramente por el contexto. El uso de la expresión “al menos uno” seguido por una lista de uno o más artículos (por ejemplo, “al menos uno de A y B”) debe interpretarse como un artículo seleccionado de los artículos listados (A o B) o cualquier combinación de dos o más de los artículos listados (A y B), a menos que se indique de otra manera en el presente documento o claramente se contradiga por el contexto. Los términos “comprendiendo”, “teniendo”, “incluyendo” y “conteniendo” se deben interpretar como términos de extremo abierto (es decir, significa “incluyendo, pero no limitados a”) a menos que se indique lo contrario. La divulgación de los intervalos de valores en el presente documento solo pretende servir como un método corto para referirse a cada valor separado que está dentro del intervalo, salvo que se indique de otra manera en el presente documento y cada valor separado se incorpore en la memoria descriptiva como si se divulgaran individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden apropiado a menos que se indique de otra manera en el presente documento o claramente se contradiga por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos; o el lenguaje ejemplar (es decir, “tal como”) proporcionado en el presente documento, pretende solamente iluminar mejor la invención y no posee una limitación en el alcance de la invención salvo que se indique lo contrario. Ningún lenguaje en la memoria descriptiva debería interpretarse como indicativo de ningún elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

#### LISTADO DE SECUENCIAS

<110> THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH y HUMAN SERVICES (EL SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO DE SANIDAD Y SERVICIOS HUMANOS EN REPRESENTACIÓN DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA)

<120> RECEPTORES DE LINFOCITOS T QUE RECONOCEN MAGE-A3 RESTRINGIDA AL MHC DE CLASE II

<130> 714146

<150> US 61/701.056

<151> 14-09-2012

<160> 71

<170> Patentin versión 3.5

<210> 1

<211> 314

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 774 931 T3

Met Pro Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu  
 1 5 10 15

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

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

Thr Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser  
 50 55 60

Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp  
 65 70 75 80

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Glu Gly Pro Ser  
 85 90 95

Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys  
 100 105 110

Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu  
 115 120 125

Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln  
 130 135 140

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu  
 145 150 155 160

ES 2 774 931 T3

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr  
 165 170 175

Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp  
 180 185 190

Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile  
 195 200 205

Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu  
 210 215 220

Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly  
 225 230 235 240

Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu  
 245 250 255

Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu  
 260 265 270

Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His  
 275 280 285

His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu  
 290 295 300

His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu  
 305 310

<210> 2  
 <211> 16  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 2

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10 15

10

<210> 3  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

Thr Ser Glu Ser Asp Tyr Tyr  
 1 5

20

<210> 4

ES 2 774 931 T3

<211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 4

Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln  
 1 5

<210> 5  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 5

Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile  
 1 5 10

<210> 6  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 6

Ser Gly His Thr Ala  
 1 5

<210> 7  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 7

Phe Gln Gly Asn Ser Ala  
 1 5

<210> 8  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 8

Ala Ser Ile Arg Thr Gly Pro Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr  
 1 5 10 15

<210> 9  
 <211> 134  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 9

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

ES 2 774 931 T3

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser  
 20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser  
 35 40 45

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

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr  
 65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser  
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys  
 100 105 110

Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr  
 115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala  
 130

<210> 10  
 <211> 137  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 10

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

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

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His  
 35 40 45

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

Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro  
 65 70 75 80

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

ES 2 774 931 T3

Thr Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala  
 100 105 110

Ser Ile Arg Thr Gly Pro Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly  
 115 120 125

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu  
 130 135

<210> 11

5 <211> 275

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 11

10

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser  
 20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser  
 35 40 45

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

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr  
 65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser  
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys  
 100 105 110

Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr  
 115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr  
 130 135 140

Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr  
 145 150 155 160

Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val  
 165 170 175

ES 2 774 931 T3

Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys  
 180 185 190

Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala  
 195 200 205

Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser  
 210 215 220

Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr  
 225 230 235 240

Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile  
 245 250 255

Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu  
 260 265 270

Trp Ser Ser  
 275

<210> 12  
 <211> 313  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 12

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

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

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His  
 35 40 45

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

Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro  
 65 70 75 80

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

Thr Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala  
 100 105 110

ES 2 774 931 T3

Ser Ile Arg Thr Gly Pro Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly  
 115 120 125

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro  
 130 135 140

Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr  
 145 150 155 160

Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His  
 165 170 175

Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val  
 180 185 190

Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser  
 195 200 205

Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln  
 210 215 220

Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser  
 225 230 235 240

Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile  
 245 250 255

Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val  
 260 265 270

Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu  
 275 280 285

Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu  
 290 295 300

Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe  
 305 310

<210> 13  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 13

5

10

Thr Ser Glu Ser Asp Tyr Tyr  
 1 5

ES 2 774 931 T3

<210> 14  
<211> 7  
<212> PRT  
5 <213> *Homo sapiens*

<400> 14

Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln  
1 5

10 <210> 15  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

15 <400> 15

Ala Tyr Thr Val Pro Ser Asn Ala Gly Gly Thr Ser Tyr Gly Lys Leu  
1 5 10 15

Thr

20 <210> 16  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25 <400> 16

Ser Asn His Leu Tyr  
1 5

30 <210> 17  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

35 <400> 17

Phe Tyr Asn Asn Glu Ile  
1 5

40 <210> 18  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 18

45 Ala Ser Ser Glu Arg Gly Gln Gly Tyr Gly Tyr Thr  
1 5 10

<210> 19  
<211> 140  
<212> PRT  
50 <213> *Homo sapiens*

<400> 19

ES 2 774 931 T3

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser  
20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser  
35 40 45

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

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr  
65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser  
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys  
100 105 110

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Ile Leu Thr Val His Pro  
130 135 140

<210> 20  
<211> 134  
5 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 20

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

Gly Leu Thr Glu Pro Glu Val Thr Gln Thr Pro Ser His Gln Val Thr  
20 25 30

Gln Met Gly Gln Glu Val Ile Leu Arg Cys Val Pro Ile Ser Asn His  
35 40 45

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

10

ES 2 774 931 T3

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

Asp Asp Gln Phe Ser Val Glu Arg Pro Asp Gly Ser Asn Phe Thr Leu  
85 90 95

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

Ser Ser Glu Arg Gly Gln Gly Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr  
115 120 125

Arg Leu Thr Val Val Glu  
130

<210> 21

<211> 281

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 21

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser  
20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser  
35 40 45

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

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr  
65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser  
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys  
100 105 110

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Ile Leu Thr Val His Pro Asn Ile Gln Asn  
130 135 140

ES 2 774 931 T3

Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys  
145 150 155 160

Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln  
165 170 175

Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met  
180 185 190

Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys  
195 200 205

Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu  
210 215 220

Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val  
225 230 235 240

Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser  
245 250 255

Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu  
260 265 270

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser  
275 280

<210> 22  
<211> 310  
5 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 22

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

Gly Leu Thr Glu Pro Glu Val Thr Gln Thr Pro Ser His Gln Val Thr  
20 25 30

Gln Met Gly Gln Glu Val Ile Leu Arg Cys Val Pro Ile Ser Asn His  
35 40 45

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

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

ES 2 774 931 T3

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

ES 2 774 931 T3

<211> 141  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 23

Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys  
 1 5 10 15

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr  
 20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr  
 35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala  
 50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser  
 65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp  
 85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe  
 100 105 110

Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala  
 115 120 125

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser  
 130 135 140

10 <210> 24  
 <211> 176  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 24

ES 2 774 931 T3

Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser  
 1 5 10 15

Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala  
 20 25 30

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

Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu  
 50 55 60

Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg  
 65 70 75 80

Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln  
 85 90 95

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

Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala  
 115 120 125

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

Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val  
 145 150 155 160

Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe  
 165 170 175

- 5 <210> 25
- <211> 137
- <212> PRT
- <213> *Mus musculus*

- 10 <400> 25

ES 2 774 931 T3

Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg  
 1 5 10 15

Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile  
 20 25 30

Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Thr  
 35 40 45

Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala  
 50 55 60

Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr  
 65 70 75 80

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

Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser  
 100 105 110

Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu  
 115 120 125

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser  
 130 135

5 <210> 26  
 <211> 172  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <400> 26

ES 2 774 931 T3

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

<210> 27

<211> 271

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 27

ES 2 774 931 T3

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser  
 20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser  
 35 40 45

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

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr  
 65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser  
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys  
 100 105 110

Ala Leu Arg Ser Ser Gly Thr Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr  
 115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala Asn Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr  
 130 135 140

Gln Leu Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr  
 145 150 155 160

Asp Phe Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr  
 165 170 175

Phe Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys  
 180 185 190

Ser Asn Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln  
 195 200 205

Asp Ile Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro  
 210 215 220

ES 2 774 931 T3

Cys Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu  
225 230 235 240

Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys  
245 250 255

Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser  
260 265 270

<210> 28

<211> 309

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10

<400> 28

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

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

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His  
35 40 45

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

Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro  
65 70 75 80

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

Thr Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala  
100 105 110

Ser Ile Arg Thr Gly Pro Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly  
115 120 125

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro  
130 135 140

Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys  
145 150 155 160

Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His

ES 2 774 931 T3

				165					170					175			
Val	Glu	Leu	Ser	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Lys	Glu	Val	His	Ser	Gly	Val		
			180					185					190				
Ser	Thr	Asp	Pro	Gln	Ala	Tyr	Lys	Glu	Ser	Asn	Tyr	Ser	Tyr	Cys	Leu		
		195					200					205					
Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	His	Asn	Pro	Arg	Asn		
	210					215					220						
His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	His	Gly	Leu	Ser	Glu	Glu	Asp	Lys		
225					230					235					240		
Trp	Pro	Glu	Gly	Ser	Pro	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Asn	Ile	Ser	Ala	Glu		
				245					250						255		
Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Ile	Thr	Ser	Ala	Ser	Tyr	His	Gln		
			260					265					270				
Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala		
		275					280					285					
Thr	Leu	Tyr	Ala	Val	Leu	Val	Ser	Gly	Leu	Val	Leu	Met	Ala	Met	Val		
	290					295						300					
Lys	Arg	Lys	Asn	Ser													
																	305

- 5 <210> 29
- <211> 11
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
  
- 10 <220>
- <223> Sintética
  
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222>(4)..(5)
- 15 <223> X en 4 y 5 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met
  
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222>(6)..(6)
- 20 <223> X en 6 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met
  
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222>(7)..(7)
- 25 <223> X en 7 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met
  
- <220>

ES 2 774 931 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <222>(7)..(7)  
 <223> X en 7 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

5 <400> 29

Ala Leu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Lys Tyr Ile  
 1 5 10

10 <210> 30  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Sintética

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222>(4)..(4)  
 <223> X en 4 es Arg, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222>(5)..(5)  
 <223> X en 5 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222>(6)..(6)  
 <223> X en 6 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222>(7)..(7)  
 <223> X en 7 es Pro, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

<400> 30

Ala Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr  
 1 5 10 15

40 <210> 31  
 <211> 134  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Sintética

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222>(116)..(117)

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222>(116)..(117)

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222>(118)..(118)

<220>

ES 2 774 931 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <222>(119)..(119)

<400> 31

5

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser  
 20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser  
 35 40 45

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

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr  
 65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser  
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys  
 100 105 110

Ala Leu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr  
 115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala  
 130

<210> 32  
 <211> 137  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Sintética

15

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(115)..(115)  
 <223> X en 115 es Arg, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

20

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(116)..(116)  
 <223> X en 116 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

25

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(117)..(117)  
 <223> X en 117 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

30

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(118)..(118)  
 <223> X en 118 es Pro, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

5  
 <400> 32

```

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

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

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His
          35           40           45

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

Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro
65           70           75           80

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

Thr Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala
          100          105          110

Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly
          115          120          125

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu
          130          135
    
```

10 <210> 33  
 <211> 275  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Sintética

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 20 <222>(116)..(117)  
 <223> X en 116 y 117 es Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 25 <222>(118)..(118)  
 <223> X en 118 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 30 <222>(119)..(119)

ES 2 774 931 T3

<223> X en 119 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

<400> 33

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser  
 20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser  
 35 40 45

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

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr  
 65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser  
 85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys  
 100 105 110

Ala Leu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Lys Tyr Ile Phe Gly Thr Gly Thr  
 115 120 125

Arg Leu Lys Val Leu Ala Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr  
 130 135 140

Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr  
 145 150 155 160

Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val  
 165 170 175

Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys  
 180 185 190

Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala  
 195 200 205

ES 2 774 931 T3

Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser  
 210 215 220

Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr  
 225 230 235 240

Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile  
 245 250 255

Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu  
 260 265 270

Trp Ser Ser  
 275

- <210> 34
- <211> 313
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Sintética
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222>(115)..(115)
- 15 <223> X en 115 es Arg, Ala, Leu, Ile, Val, o Met
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222>(116)..(116)
- 20 <223> X en 116 es Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222>(117)..(117)
- 25 <223> X en 117 es Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222>(118)..(118)
- 30 <223> X en 118 es Pro, Ala, Leu, Ile, Val, o Met
- <400> 34

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

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

Glu Lys Gly Lys Asp Val Glu Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His  
 35 40 45

ES 2 774 931 T3

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

Leu Ile Tyr Phe Gln Gly Asn Ser Ala Pro Asp Lys Ser Gly Leu Pro  
65 70 75 80

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

Thr Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala  
100 105 110

Ser Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Phe Ser Gly Asn Thr Ile Tyr Phe Gly  
115 120 125

Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro  
130 135 140

Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr  
145 150 155 160

Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His  
165 170 175

Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val  
180 185 190

Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser  
195 200 205

Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln  
210 215 220

Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser  
225 230 235 240

Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile  
245 250 255

Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val  
260 265 270

Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu  
275 280 285

Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

ES 2 774 931 T3

290

295

300

Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe  
305 310

5 <210> 35  
<211> 141  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 35

Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys  
1 5 10 15

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr  
20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr  
35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala  
50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser  
65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp  
85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe  
100 105 110

Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala  
115 120 125

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser  
130 135 140

10  
  
15 <210> 36  
<211> 176  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 36



ES 2 774 931 T3

atggcatgcc ctggcttct gtgggcactt gtgatctcca cctgtcttga atttagcatg	60
gctcagacag tcaactcagtc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc	120
ctgagctgca catatgacac cagtgagagt gattattatt tattctggta caagcagcct	180
cccagcaggc agatgattct cgttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca	240
gagaatcgtt tctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ccttcagtct caagatctca	300
gactcacagc tgggggatgc cgcgatgat ttctgtgctc tccggagctc aggaacctac	360
aaatacatct ttggaacagg caccaggctg aaggttttag caaatatcca gaacctgac	420
cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc	480
gattttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacia agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac	540
aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtgtg ggctggagc	600
aacaaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc	660
ttcttcccca gccagaaaag ttctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaacaa	720
gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa	780
gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg cggctgtggt ccagctga	828

5 <210> 38  
 <211> 942  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 38

ES 2 774 931 T3

atgggcacca ggctcctctt ctgggtggcc ttctgtctcc tgggggcaga tcacacagga 60  
gctggagtct cccagtcccc cagtaacaag gtcacagaga agggaaagga tgtagagctc 120  
aggtgtgatc caatttcagg tcatactgcc ctttactggt accgacagag cctggggcag 180  
ggcctggagt ttttaattta cttccaaggc aacagtgcac cagacaaatc agggctgccc 240  
agtgatcgct tctctgcaga gaggactggg ggatccgtct ccaactctgac gatccagcgc 300  
acacagcagg aggactcggc cgtgtatctc tgtgccagca tccggacagg gccttttttc 360  
tctggaaaca ccatatattt tggagagggg agttggctca ctgttgtaga ggacctgaac 420  
aaggtgttcc cacccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 480  
caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ctgaccacgt ggagctgagc 540  
tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cggaccgcga gcccctcaag 600  
gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcctgagca gccgcctgag ggtctcggcc 660  
accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 720  
gagaatgacg agtggaccca ggatagggcc aaaccctca cccagatcgt cagcgccgag 780  
gcctggggta gagcagactg tggctttacc tgggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 840  
gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 900  
gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 942

<210> 39  
<211> 846  
5 <212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

<400> 39

atggcatgcc ctggcttccct gtgggcactt gtgatctcca cctgtcttga atttagcatg 60  
gctcagacag tcaactcagtc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc 120  
ctgagctgca catatgacac cagtgagagt gattattatt tattctggta caagcagcct 180  
cccagcaggc agatgattct cgttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca 240

10

ES 2 774 931 T3

gagaatcgtt tctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ccttcagtct caagatctca 300  
gactcacagc tgggggatgc cgcgatgtat ttctgtgctt acacgggtcc ctctaagtct 360  
ggtggtacta gctatggaaa gctgacattt ggacaaggga ccatcttgac tgtccatcca 420  
aatatccaga accctgaccc tgccgtgtac cagctgagag actctaaatc cagtgacaag 480  
tctgtctgcc tattcaccga ttttgattct caaacaaatg tgtcacaaag taaggattct 540  
gatgtgtata tcacagacaa aactgtgcta gacatgaggt ctatggactt caagagcaac 600  
agtgtgtgg cctggagcaa caaatctgac tttgcatgtg caaacgcctt caacaacagc 660  
attattccag aagacacctt cttccccagc ccagaaagtt cctgtgatgt caagctggtc 720  
gagaaaagct ttgaaacaga tacgaacctt aactttcaaa acctgtcagt gattgggttc 780  
cgaatcctcc tcctgaaagt ggccgggttt aatctgctca tgacgctgcg gctgtggtcc 840  
agctga 846

5 <210> 40  
<211> 933  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

<400> 40

atggatacct ggctcgtatg ctgggcaatt ttagtctct tgaagcagg actcacagaa 60  
cctgaagtca cccagactcc cagccatcag gtcacacaga tgggacagga agtgatcttg 120  
cgctgtgtcc ccatctctaa tcacttatac ttctattggt acagacaaat cttggggcag 180  
aaagtcgagt ttctggtttc cttttataat aatgaaatct cagagaagtc tgaatatattc 240  
gatgatcaat tctcagttga aaggcctgat ggatcaaatt tcactctgaa gatccgggtcc 300  
acaaagctgg aggactcagc catgtacttc tgtgccagca gtgaaagggg acagggttat 360  
ggctacacct tcggttcggg gaccaggtta accgtttag taggacctgaa caaggtgttc 420  
ccaccgagag tcgctgtggt tgagccatca gaagcagaga tctcccacac caaaaggcc 480  
aactggtgt gcctggccac aggtttcttc cccgaccacg tggagctgag ctggtgggtg 540  
aatgggaagg aggtgcacag tggggtcagc acagaccgc agcccctcaa ggagcagccc 600  
gccctcaatg actccagata ctgcctgagc agccgcctga gggctctggc caccttctgg 660  
cagaaccccc gcaaccactt ccgctgtcaa gtccagttct acgggctctc ggagaatgac 720  
gagtggaccc aggatagggc caaacccgtc acccagatcg tcagcgccga ggctgggggt 780  
agagcagact gtggctttac ctcggtgtcc taccagcaag gggctctgtc tgccaccatc 840  
ctctatgaga tcctgctagg gaaggccacc ctgtatgctg tgctggtcag cggccttgtg 900  
ttgatggcca tgggtcaagag aaaggatttc tga 933

10  
15 <210> 41  
<211> 816  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

ES 2 774 931 T3

<220>  
<223> Sintética

5 <400> 41

atggcatgcc ctggcttctt gtgggcactt gtgatctcca cctgtcttga atttagcatg	60
gctcagacag tcaactcagtc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc	120
ctgagctgca catatgacac cagtgagagt gattattatt tattctggta caagcagcct	180
cccagcaggc agatgattct cgttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca	240
gagaatcgtt tctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ccttcagtct caagatctca	300
gactcacagc tgggggatgc cgcgatgtat ttctgtgctc tccggagctc aggaacctac	360
aaatacatct ttggaacagg caccaggctg aaggttttag caaatatcca gaaccctgaa	420
cctgctgtgt accagttaaa agatcctcgg tctcaggaca gcaccctctg cctgttcacc	480
gactttgact cccaaatcaa tgtgccgaaa accatggaat ctggaacggt catcactgac	540
aaaactgtgc tggacatgaa agctatggat tccaagagca atggggccat tgccctggagc	600
aaccagacaa gcttcacctg ccaagatata ttcaaagaga ccaacgccac ctacccagct	660
tcagacgctt cctgtgatgc cacgttgact gagaaaagct ttgaaacaga tatgaacctc	720
aactttcaaa acctgtcagt tatgggactc cgaatcctcc tgctgaaagt agccggattt	780
aacctgctca tgacgctgag gctgtggtcc agttga	816

10 <210> 42  
<211> 930  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Sintética

<400> 42

atgggcacca ggctcctctt ctgggtggcc ttctgtctcc tgggggcaga tcacacagga	60
gctggagtct cccagtcccc cagtaacaag gtcacagaga agggaaagga tgtagagctc	120
aggtgtgatc caatttcagg tcatactgcc ctttactggt accgacagag cctggggcag	180
ggcctggagt ttttaattta cttccaaggc aacagtgcac cagacaaatc agggctgccc	240
agtgatcgct tctctgcaga gaggactggg ggatccgtct ccaactctgac gatccagcgc	300
acacagcagg aggactcggc cgtgtatctc tgtgccagca tccggacagg gccttttttc	360
tctggaaaca ccatatattt tggagagga agttggctca ctgttgtaga ggacctgaga	420
aacgtgacct cacccaaggt ctcttggtt gagccatcaa aagcagagat tgcaaacaaa	480
caaaaggcta ccctcgtgtg cttggccagg ggcttcttcc ctgaccacgt ggagctgagc	540

20

ES 2 774 931 T3

tggtgggtga atggcaagga ggtccacagt ggggtcagca cggaccctca ggcctacaag	600
gagagcaatt atagctactg cctgagcagc cgcctgaggg tctctgctac cttctggcac	660
aatcctcgaa accacttccg ctgccaagtg cagttccatg ggctttcaga ggaggacaag	720
tggccagagg gctcaccxaa acctgtcaca cagaacatca gtgcagaggc ctggggccga	780
gcagactgtg gaatcacttc agcatcctat catcaggggg ttctgtctgc aaccatcctc	840
tatgagatcc tactggggaa ggccacccta tatgctgtgc tggtcagtgg cctgggtgtg	900
atggctatgg tcaaaagaaa gaactcatga	930

5 <210> 43  
 <211> 828  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(346)..(348)  
 <223> nnn en 346-348 es AGC, GCC, o cualquier codón que codifica Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

20 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(349)..(351)  
 <223> nnn en 349-351 es TCA, GCC, o cualquier codón que codifica Ser, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

25 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(352)..(354)  
 <223> 352-354 es GGA, GCC, o cualquier codón que codifica Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

30 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(355)..(357)  
 <223> nnn en misc feature: nnn en 355-357 es ACC, GCC, o cualquier codón que codifica Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

<400> 43

atggcatgcc ctggcttcoct gtgggcactt gtgatctcca cctgtcttga atttagcatg	60
gctcagacag tcaactcagtc tcaaccagag atgtctgtgc aggaggcaga gaccgtgacc	120
ctgagctgca catatgacac cagtgagagt gattattatt tattctggta caagcagcct	180
cccagcagggc agatgattct cgttattcgc caagaagctt ataagcaaca gaatgcaaca	240
gagaatcgtt tctctgtgaa cttccagaaa gcagccaaat ccttcagtct caagatctca	300
gactcacagc tgggggatgc cgcgatgtat ttctgtgctc tccggnnnn nnnnnntac	360
aaatacatct ttggaacagc caccaggctg aaggttttag caaatatcca gaaccctgac	420

35

ES 2 774 931 T3

cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc 480  
 gatthttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacia agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac 540  
 aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgtctgt ggccctggagc 600  
 aacaaaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc 660  
 ttcttcccca gccagaaaag ttcctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaaaca 720  
 gatagcaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa 780  
 gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg cggctgtggt ccagctga 828

5 <210> 44  
 <211> 942  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(343)..(345)  
 <223> NNN en 343-345 es CGG, GCC, o cualquier codón que codifica Arg, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

20 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(346)..(348)  
 <223> NNN en 346-348 es ACA, GCC, o cualquier codón que codifica Thr, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

25 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(349)..(351)  
 <223> NNN en 349-351 es GGG, GCC, o cualquier codón que codifica Gly, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

30 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222>(352)..(354)  
 <223> NNN en 352-354 es CCT, GCC, o cualquier codón que codifica Pro, Ala, Leu, Ile, Val, o Met

<400> 44

atgggcacca ggctcctctt ctgggtggcc ttctgtctcc tgggggcaga tcacacagga 60  
 gctggagtct cccagtcccc cagtaacaag gtcacagaga agggaaagga tgtagagctc 120  
 aggtgtgatc caatttcagg tcatactgcc ctttactggt accgacagag cctggggcag 180  
 ggccctggagt ttttaattta cttccaaggc aacagtgcac cagacaaatc agggctgccc 240  
 agtgatcgct tctctgcaga gaggactggg ggatccgtct ccactctgac gatccagcgc 300  
 acacagcagg aggactcggc cgtgtatctc tgtgccagca tcnnnnnnnn nnnntttttc 360  
 tctgaaaca ccatatattt tggagagga agttggctca ctggtgtaga ggacctgaac 420

ES 2 774 931 T3

aaggtgttcc caccgaggt cgctgtgttt gagccatcag aagcagagat ctcccacacc 480  
 caaaaggcca cactggtgtg cctggccaca ggcttcttcc ctgaccacgt ggagctgagc 540  
 tgggtgggtga atgggaagga ggtgcacagt ggggtcagca cggaccgca gccctcaag 600  
 gagcagcccg ccctcaatga ctccagatac tgcctgagca gccgcctgag ggtctcggcc 660  
 accttctggc agaacccccg caaccacttc cgctgtcaag tccagttcta cgggctctcg 720  
 gagaatgacg agtggacca ggatagggcc aaaccogtca cccagatcgt cagcgccgag 780  
 gcctggggta gagcagactg tggctttacc tcggtgtcct accagcaagg ggtcctgtct 840  
 gccaccatcc tctatgagat cctgctaggg aaggccaccc tgtatgctgt gctggtcagc 900  
 gcccttgtgt tgatggccat ggtcaagaga aaggatttct ga 942

<210> 45  
 <211> 314  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 45

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

10

ES 2 774 931 T3

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Asp Ser Leu Gln Leu  
 145 150 155 160

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Val Tyr  
 165 170 175

Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp  
 180 185 190

Asn Gln Ile Met Pro Lys Thr Gly Phe Leu Ile Ile Ile Leu Ala Ile  
 195 200 205

Ile Ala Lys Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu  
 210 215 220

Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Phe Gly  
 225 230 235 240

Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln Tyr Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu  
 245 250 255

Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu  
 260 265 270

Trp Gly Pro Arg Ala Leu Ile Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His  
 275 280 285

His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro Arg Ile Ser Tyr Pro Leu Leu  
 290 295 300

His Glu Trp Ala Leu Arg Glu Gly Glu Glu  
 305 310

<210> 46  
 <211> 16  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 46

10 Lys Lys Leu Leu Thr Gln Tyr Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10 15

<210> 47  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

20 <400> 47

ES 2 774 931 T3

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu  
 1 5 10

5 <210> 48  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética

<400> 48

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr  
 1 5 10

15 <210> 49  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética

<400> 49

25 Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn  
 1 5 10

30 <210> 50  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Sintética

<400> 50

Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu  
 1 5 10

40 <210> 51  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Sintética

<400> 51

Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

50 <210> 52  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <213> Secuencia artificial

ES 2 774 931 T3

<220>  
<223> Sintética

5 <400> 52

Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
1 5 10

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

15 <220>  
<223> Sintética  
<400> 53

Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
1 5 10

20 <210> 54  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Sintética  
<400> 54

Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
1 5 10

30 <210> 55  
<211> 10  
<212> PRT  
35 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Sintética

40 <400> 55

His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
1 5 10

45 <210> 56  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Sintética  
<400> 56

Gln Tyr Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
1 5 10

55 <210> 57  
<211> 11

ES 2 774 931 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Sintética

<400> 57

Gln Asp Leu Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

10 <210> 58  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Sintética

<400> 58

20 Gln Asp Trp Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

25 <210> 59  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Sintética

<400> 59

Gln Glu Trp Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

35 <210> 60  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Sintética

<400> 60

Gln Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

45 <210> 61  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 50 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética

55 <400> 61

ES 2 774 931 T3

Lys Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

5 <210> 62  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 62

Lys Asp Leu Val Lys Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

15 <210> 63  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 63

Lys Asp Phe Val Lys Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

25 <210> 64  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Sintética  
 35 <400> 64

Lys Val Trp Val Gln Glu His Tyr Leu Glu Tyr  
 1 5 10

40 <210> 65  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Sintética  
 <400> 65

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

50 <210> 66  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>

ES 2 774 931 T3

<223> Sintética

<400> 66

5           Lys Lys Leu Ile Thr Asp Glu Phe Val Lys Gln Lys Tyr Leu Asp Tyr  
            1                                   5                                   10                                   15

<210> 67

<211> 16

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

15 <400> 67

            Lys Lys Leu Ile Thr Glu Val Phe Val Arg Gln Lys Tyr Leu Glu Tyr  
            1                                   5                                   10                                   15

<210> 68

20 <211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintética

<400> 68

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

30

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Sintética

<400> 69

40

                  Glu Glu Phe Val Gln Met Asn Tyr Leu Lys Tyr  
                  1                                   5                                   10

<210> 70

<211> 16

45 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

50

<400> 70

            Lys Lys Leu Leu Thr Gln Asp Leu Val Gln Glu Asn Tyr Leu Glu Tyr  
            1                                   5                                   10                                   15

55 <210> 71

<211> 16

ES 2 774 931 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
5 <223> Sintética

<400> 71

10            Lys Lys Leu Leu Thr Gln Asp Leu Val Gln Glu Lys Tyr Leu Glu Tyr  
              1                            5                            10                            15

**REIVINDICACIONES**

1. Un receptor de linfocitos T (TCR) aislado o purificado que comprende:

(a) las SEQ ID NO: 3-8 o  
 (b) una variante funcional de (a),  
 en donde el TCR de (a) y la variante funcional de (b) se unen de manera específica a MAGE A3 que se presenta por HLA-DPβ1\*04 y (ii) MAGE-A6,  
 en donde la variante funcional comprende:

(I) las SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8, y 29, en donde:

- (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;
- (2) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;
- (3) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Ala en la SEQ ID NO: 29; o
- (4) Xaa en 4 es Val, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29; o

(II) las SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 y 30 en donde:

- (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Thr, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30; o
- (2) Xaa en 4 es Arg, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30,

preferentemente en donde la variante funcional comprende

- (a) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ala, Xaa5 es Ser, Xaa6 es Gly y Xaa7 es Thr, o
- (b) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Xaa5 es Ala, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr.

2. El TCR aislado o purificado o la variante funcional de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una región constante de murino, preferentemente que comprende una región constante de murino que comprende la SEQ ID NO: 25 y/o la SEQ ID NO: 26.

3. El TCR aislado o purificado o la variante funcional de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende las secuencias de aminoácidos de:

- (a) las SEQ ID NO: 9 y 10;
- (b) las SEQ ID NO: 10 y 31, en donde:

- (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;
- (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;
- (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 31; o
- (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31; o

(c) las SEQ ID NO: 9 y 32, en donde:

- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32; o
- (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32,

preferentemente que comprende

- (a) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o
- (b) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

4. El TCR aislado o purificado o la variante funcional de acuerdo con uno cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende:

- (a) las SEQ ID NO: 11 y 12;
- (b) las SEQ ID NO: 27 y 28;
- (c) las SEQ ID NO: 12 y 33, en donde:

- (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;
- (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;
- (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 33; o
- (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33; o

(d) las SEQ ID NO: 11 y 34, en donde:

- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34; o  
 (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34,  
 preferentemente que comprende

5

- (a) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr o  
 (b) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

5. Un polipéptido aislado o purificado que comprende una porción funcional del TCR o la variante funcional de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la porción funcional se une de manera específica a (i) MAGE A3 que es presentada por HLA-DPβ1\*04 y (ii) MAGE-A6 y en donde la porción funcional comprende

10

- (a) las SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8 y 29, en donde:

15

- (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
 (2) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
 (3) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Ala en la SEQ ID NO: 29; o  
 (4) Xaa en 4 es Val, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;

20

- (b) las SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 y 30, en donde:

- (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Thr, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30; o  
 (2) Xaa en 4 es Arg, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30; o

25

- (c) las SEQ ID NO: 3-8,  
 en donde preferentemente la porción funcional comprende

- (a) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ala, Xaa5 es Ser, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr, o  
 (b) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Xaa5 es Ala, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr.

30

6. El polipéptido aislado o purificado de la reivindicación 5, en donde la porción comprende:

- (a) las SEQ ID NO: 9 y 10;  
 (b) las SEQ ID NO: 10 y 31, en donde:

35

- (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
 (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
 (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 31; o  
 (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31; o

40

- (c) las SEQ ID NO: 9 y 32, en donde:

- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32; o  
 (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32,

45

preferentemente en donde la porción comprende

- (a) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o  
 (b) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

50

7. El polipéptido aislado o purificado de la reivindicación 5, en donde la porción comprende:

- (a) las SEQ ID NO: 11 y 12;  
 (b) las SEQ ID NO: 27 y 28;  
 (c) las SEQ ID NO: 12 y 33, en donde:

55

- (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
 (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
 (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 33; o  
 (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33; o

60

- (d) las SEQ ID NO: 11 y 34, en donde:

- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34; o  
 (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34,

65

preferentemente en donde la porción comprende

- (a) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly y Xaa119 es Thr, o  
 (b) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

5 8. Una proteína aislada o purificada que se une de manera específica a (I) MAGE A3 que es presentada por HLA-DPβ1\*04 y (II) MAGE-A6, en donde la proteína aislada o purificada comprende:

- (a) una primera cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-5 y una segunda cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6-8;  
 (b) una primera cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3, 4 y 29, y una segunda cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6-8, en donde:

- 15 (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
 (2) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29;  
 (3) Xaa en 4 es Ser, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Ala en la SEQ ID NO: 29; o  
 (4) Xaa en 4 es Val, Xaa en 5 es Ser, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Thr en la SEQ ID NO: 29; o

- (c) una primera cadena de polipéptido que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 3-5 y una segunda cadena de polipéptidos que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 30, en donde:

- 20 (1) Xaa en 4 es Ala, Xaa en 5 es Thr, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30; o  
 (2) Xaa en 4 es Arg, Xaa en 5 es Ala, Xaa en 6 es Gly, y Xaa en 7 es Pro en la SEQ ID NO: 30,

25 preferentemente en donde la proteína aislada o purificada es una proteína de fusión y/o un anticuerpo recombinante.

9. La proteína aislada o purificada de la reivindicación 8, en donde la primera cadena de polipéptido comprende

- 30 (a) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ala, Xaa5 es Ser, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr, o  
 (b) la SEQ ID NO: 29, en donde Xaa4 es Ser, Xaa5 es Ala, Xaa6 es Gly, y Xaa7 es Thr.

10. La proteína aislada o purificada de acuerdo con uno cualquiera de las reivindicaciones 8-9, que comprende:

- 35 (a) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10;  
 (b) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, en donde:

- 40 (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
 (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31;  
 (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 31; o  
 (4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 31; o

- (c) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32, en donde:

- 45 (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32; o  
 (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 32,

50 preferentemente en donde la primera cadena de polipéptido comprende

- (a) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o  
 (b) la SEQ ID NO: 31, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

55 11. La proteína aislada o purificada de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, que comprende:

- (a) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12;  
 (b) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28;  
 (c) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, en donde:

- 60 (1) Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
 (2) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ala, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33;  
 (3) Xaa en 116 es Ser, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Ala en la SEQ ID NO: 33; o

(4) Xaa en 116 es Val, Xaa en 117 es Ser, Xaa en 118 es Gly, y Xaa en 119 es Thr en la SEQ ID NO: 33; o

(d) una primera cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una segunda cadena de polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34, en donde:

- 5
- (1) Xaa en 115 es Ala, Xaa en 116 es Thr, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34; o
  - (2) Xaa en 115 es Arg, Xaa en 116 es Ala, Xaa en 117 es Gly, y Xaa en 118 es Pro en la SEQ ID NO: 34,

preferentemente en donde la primera cadena de polipéptido comprende

- 10
- (a) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ala, Xaa117 es Ser, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr, o
  - (b) la SEQ ID NO: 33, en donde Xaa116 es Ser, Xaa117 es Ala, Xaa118 es Gly, y Xaa119 es Thr.

15

12. Un ácido nucleico aislado o purificado que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica el TCR o una variante funcional de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, el polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, o la proteína aislada o purificada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, preferentemente en donde la secuencia de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en a) las SEQ ID NO: 37 y 38, b) las SEQ ID NO: 41 y 42, y c) las SEQ ID NO: 43 y 44.

20

13. Un vector de expresión recombinante que comprende el ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 12.

25

14. Una célula hospedadora aislada que comprende el vector de expresión recombinante de la reivindicación 13, preferentemente en donde la célula es humana.

25

15. Una población de células que comprende al menos una célula hospedadora de la reivindicación 14.

30

16. Una composición farmacéutica que comprende el TCR o la variante funcional de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, el polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, la proteína aislada o purificada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, el ácido nucleico de la reivindicación 12, el vector de expresión recombinante de la reivindicación 13, la célula hospedadora de la reivindicación 14, o la población de células de la reivindicación 15, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35

17. Un método de detección de la presencia de cáncer en un mamífero, que comprende:

- 40
- (a) poner en contacto una muestra que comprende una o más células del mamífero con el TCR o la variante funcional de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, el polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, la proteína aislada o purificada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, el ácido nucleico de la reivindicación 12, el vector de expresión recombinante de la reivindicación 13, la célula hospedadora de la reivindicación 14, la población de células de la reivindicación 15, o la composición farmacéutica de la reivindicación 16, formando de este modo un complejo, y
  - (b) la detección del complejo, en donde la detección del complejo es indicativa de la presencia de cáncer en el mamífero, en donde preferentemente el cáncer es melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, sarcoma de células sinoviales, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago o cáncer de ovario.
- 45

50

18. El TCR o la variante funcional de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, el polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, la proteína aislada o purificada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, el ácido nucleico de la reivindicación 12, el vector de expresión recombinante de la reivindicación 13, la célula hospedadora de la reivindicación 14, la población de células de la reivindicación 15, o la composición farmacéutica de la reivindicación 16, para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer en un mamífero, preferentemente en donde el cáncer es melanoma, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, sarcoma de células sinoviales, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago o cáncer de ovario.

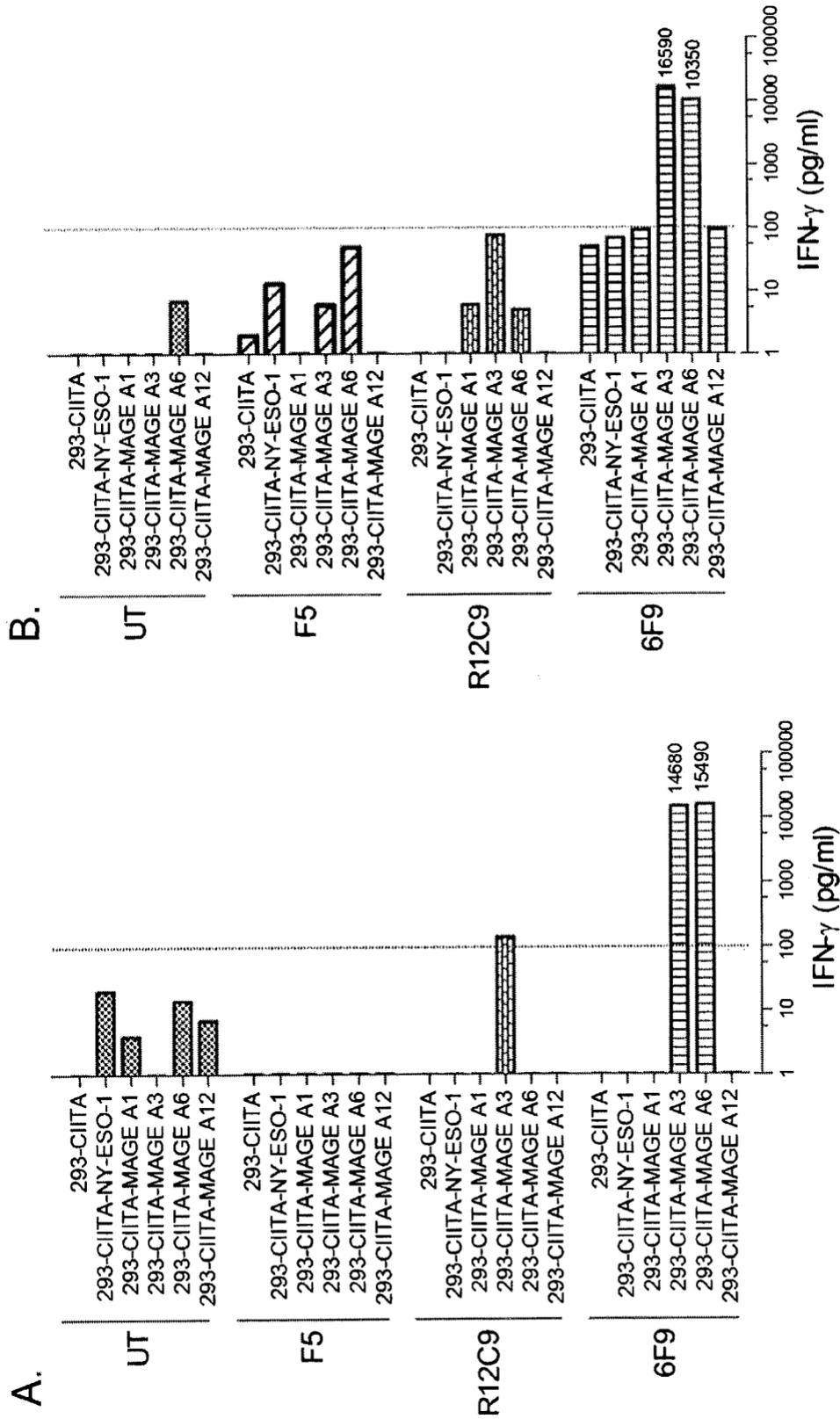


FIG. 1

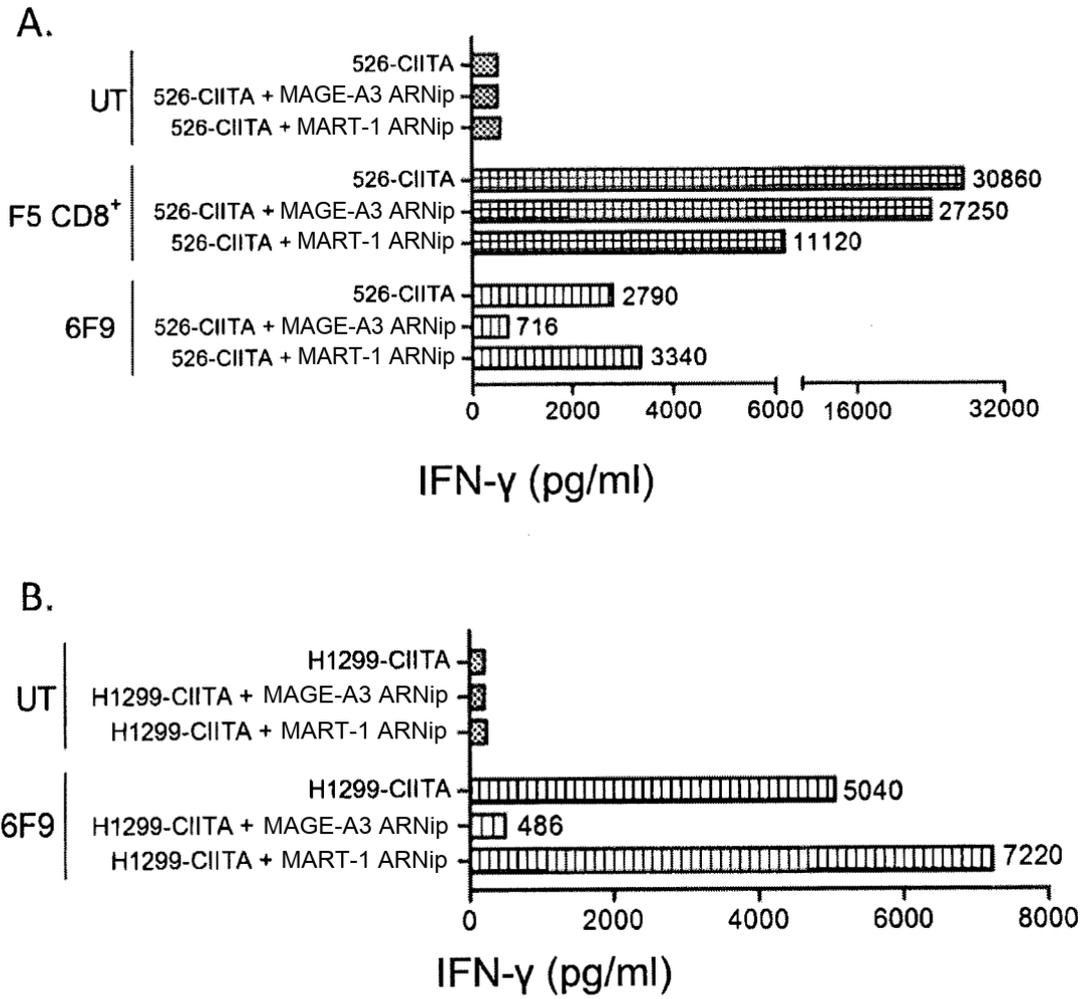


FIG. 2

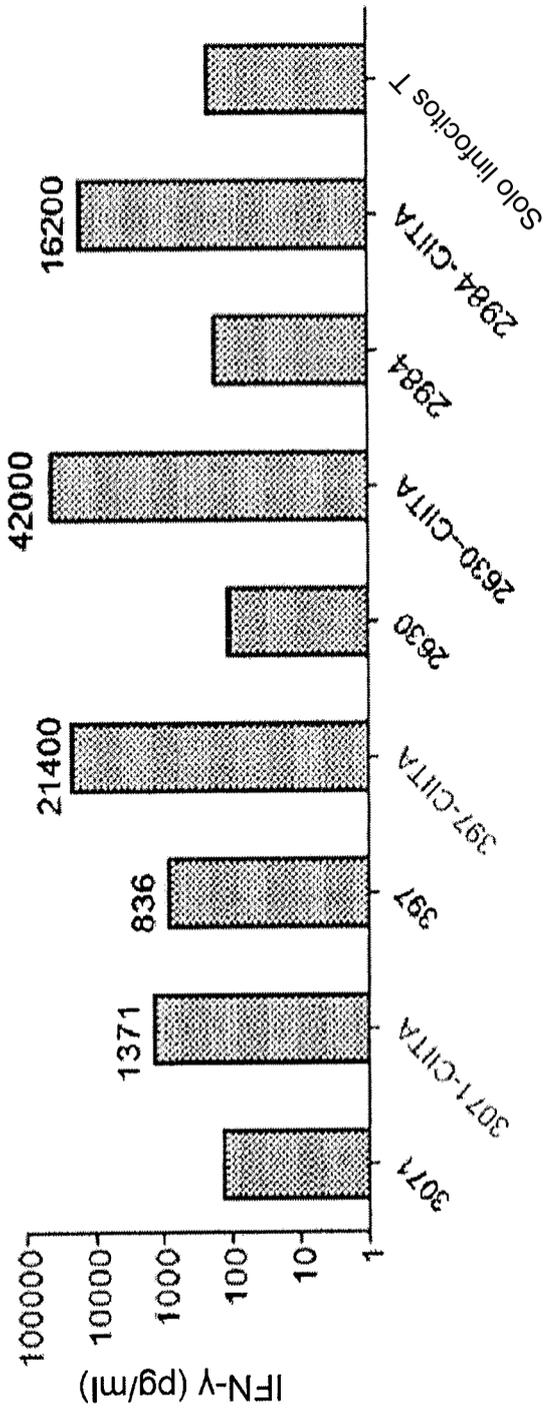


FIG. 3

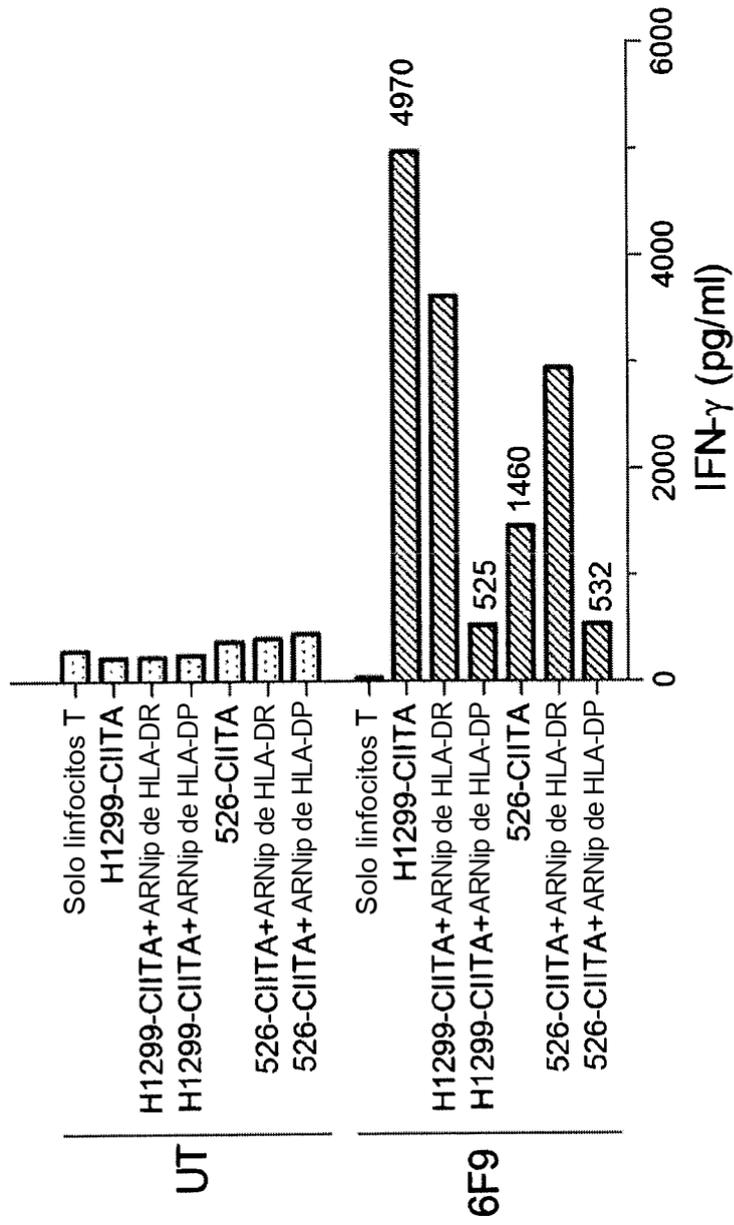


FIG. 4

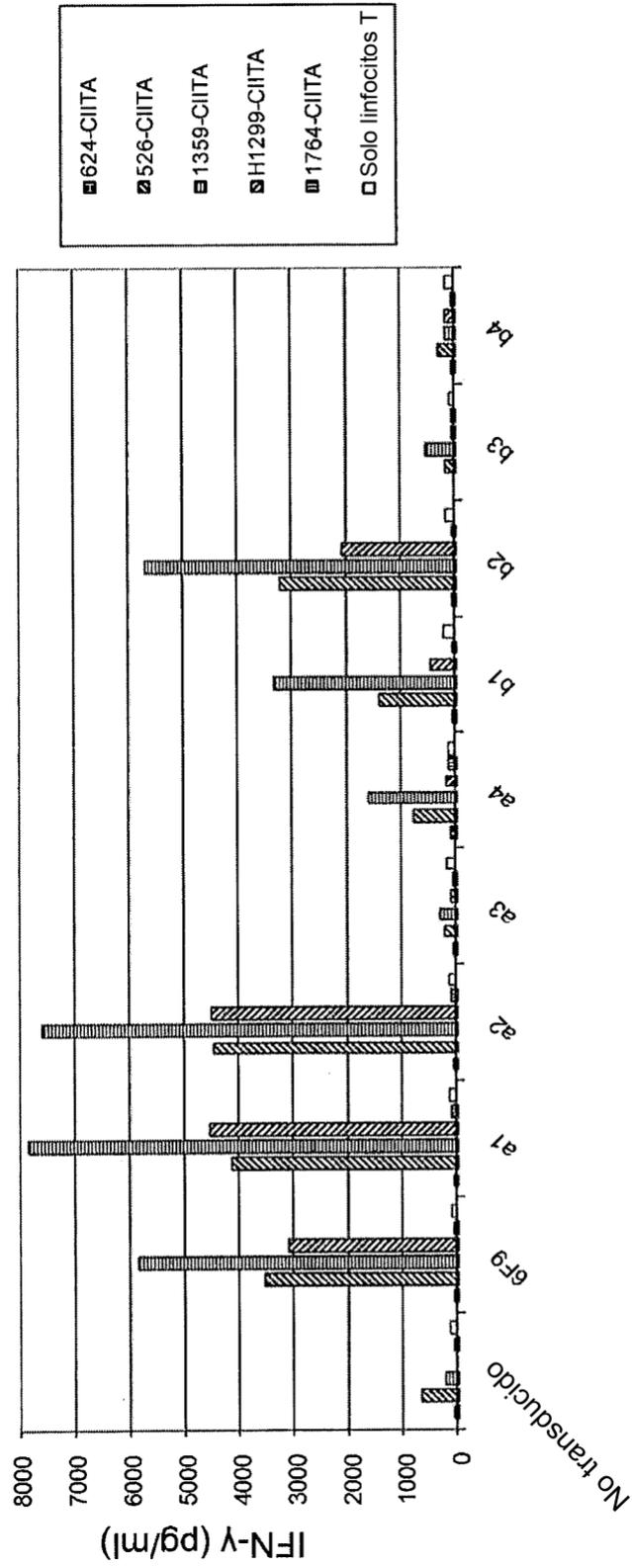


FIG. 5

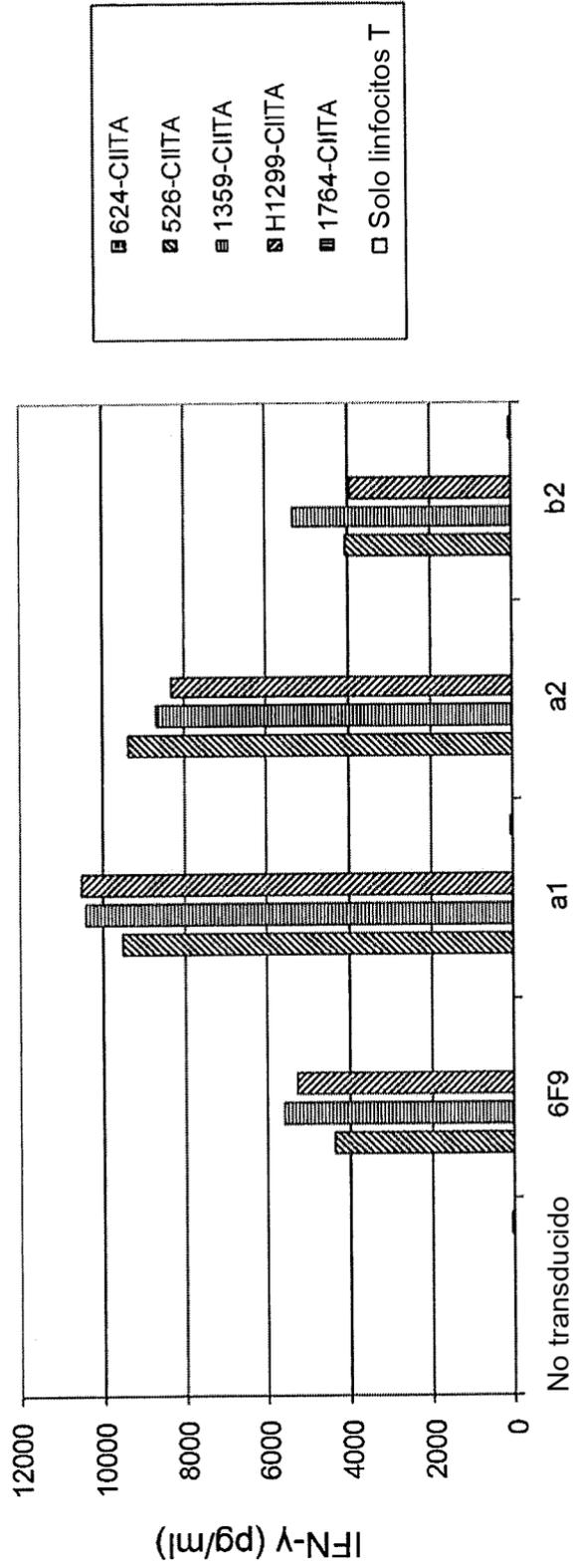


FIG. 6

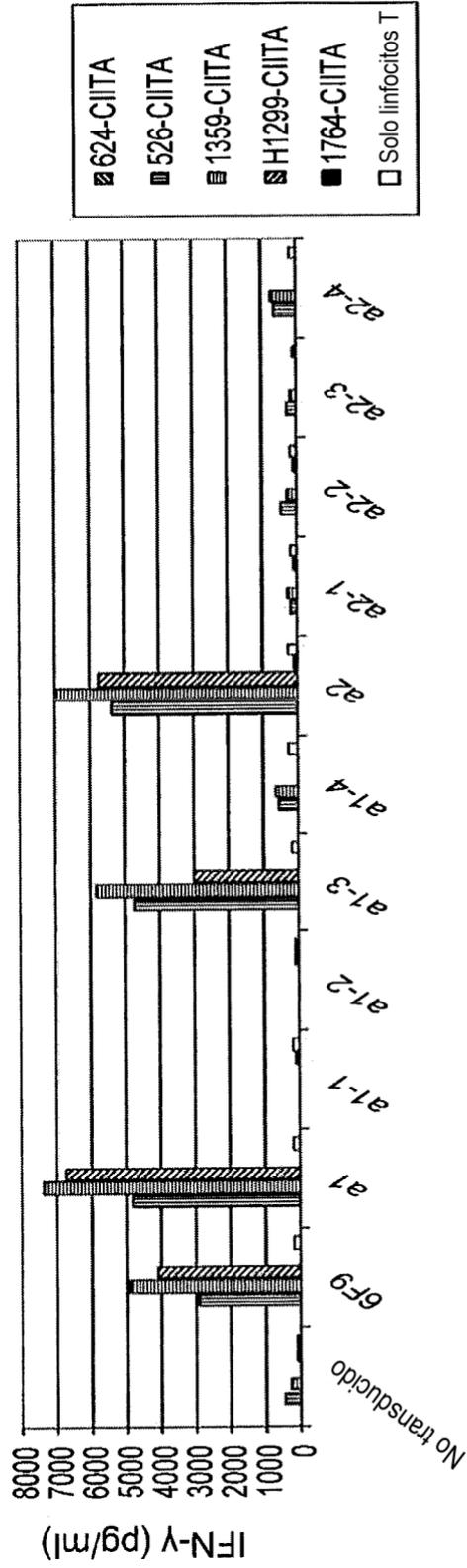


FIG. 7

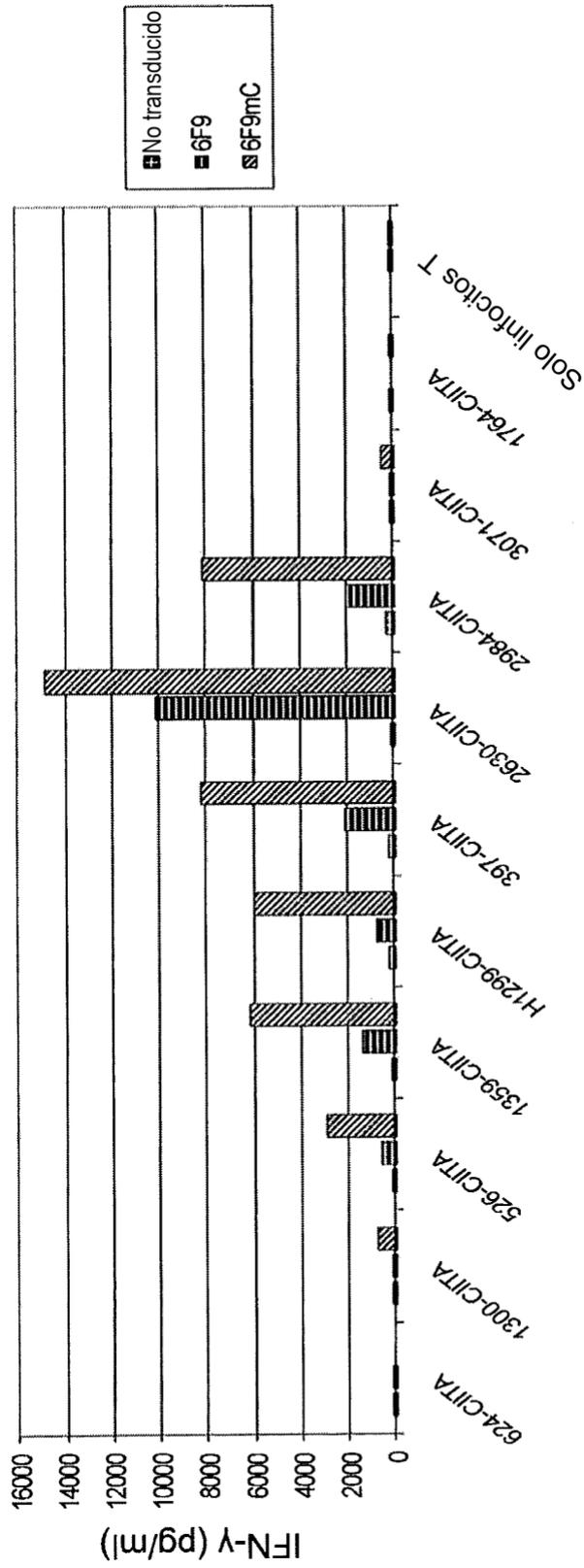


FIG. 8

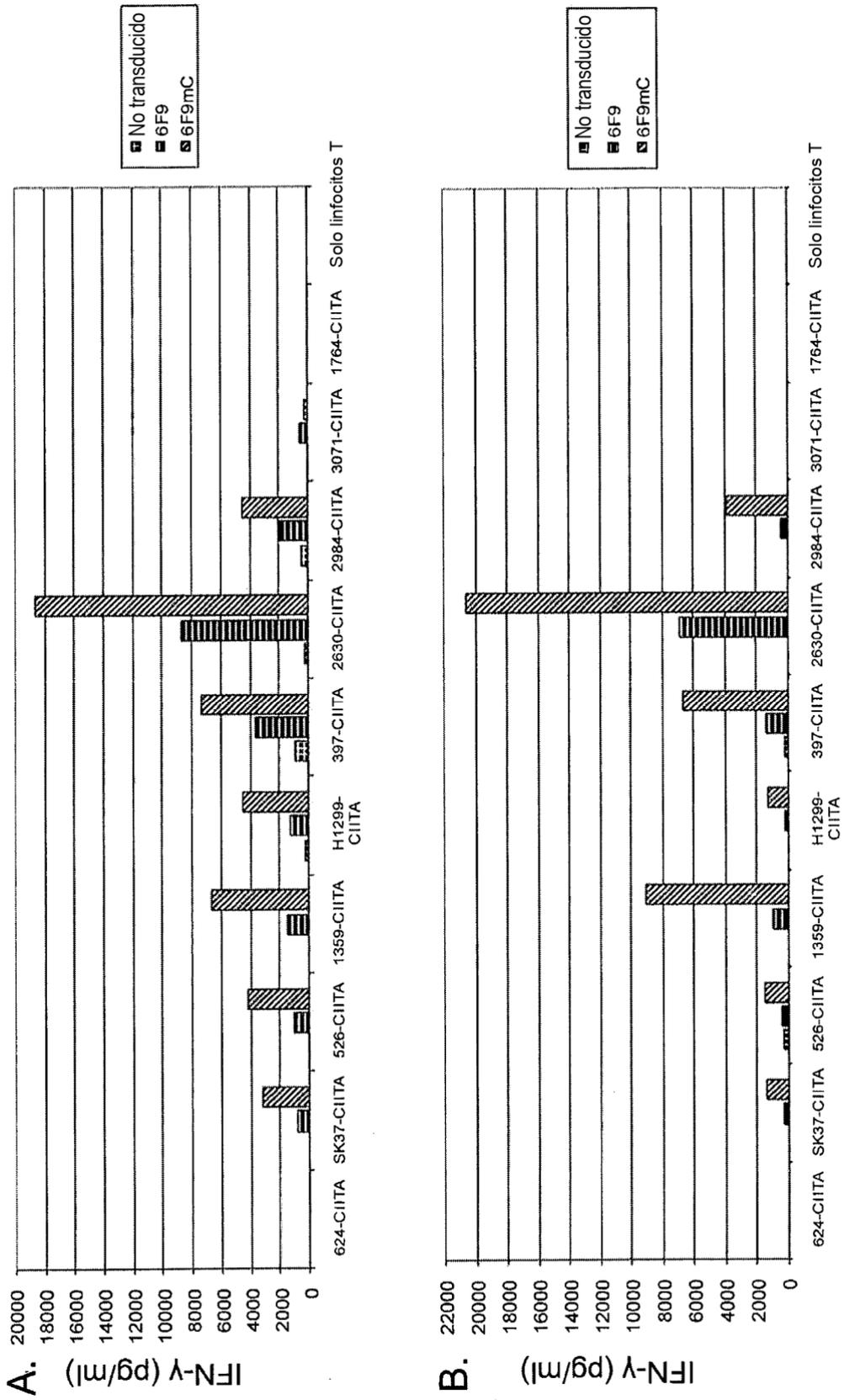


FIG. 9

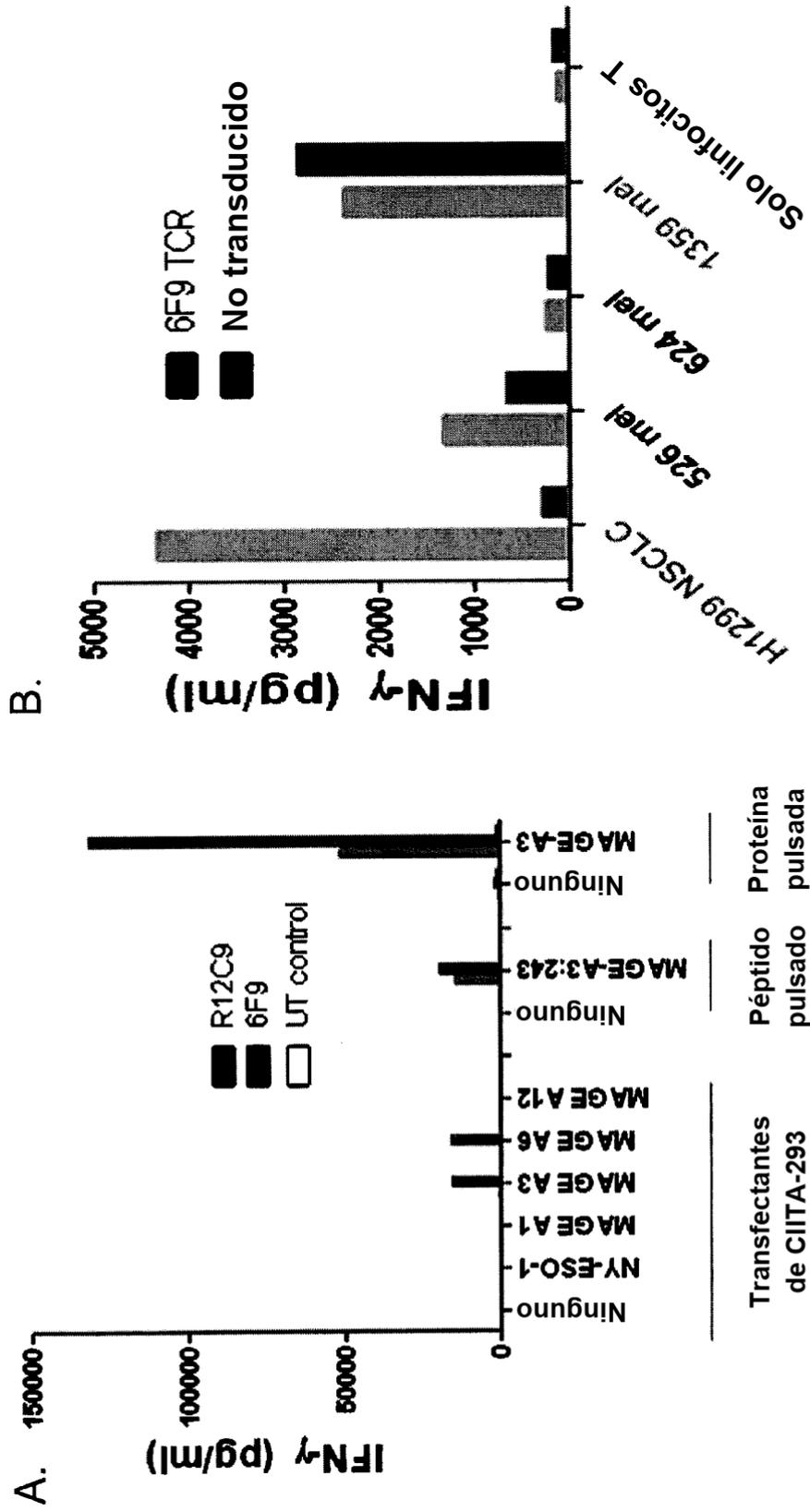


FIG. 10