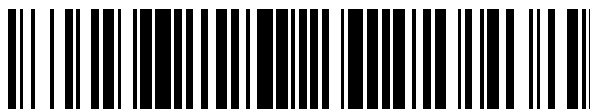


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 777 305**

51 Int. Cl.:

C07K 16/30 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.09.2015** **PCT/EP2015/070128**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.03.2016** **WO16034666**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.09.2015** **E 15757289 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019** **EP 3189073**

54 Título: **Receptores de antígeno quiméricos específicos de la glicoproteína trofoblástica (5T4, TPBG) para inmunoterapia contra el cáncer**

30 Prioridad:

04.09.2014 DK 201470543

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

04.08.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

SCHIFFER-MANNIOUI, CÈCILE

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 777 305 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 antígeno quiméricos específicos de la glicoproteína trofoblástica (5T4, TPBG) para inmunoterapia contra el cáncer

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a receptores de antígeno quimérico (CAR, por sus siglas en inglés) que son proteínas quiméricas recombinantes que pueden redirigir la especificidad y reactividad de la célula inmunitaria hacia 5T4, una glicoproteína de la superficie celular hallada en la mayoría de células mieloides y usada para diagnosticar tumores sólidos tales como tumores de estómago, colon y ovario, y leucemia linfocítica aguda (LLA) de células B precursoras en pacientes. Los CAR según la invención son particularmente útiles para tratar células malignas que
- 10 portan el antígeno 5T4, cuando se expresan en células T o células NK. Las células inmunitarias modificadas por ingeniería genética resultantes presentan un alto nivel de especificidad hacia células malignas, lo que confiere seguridad y eficacia para inmunoterapia.

Antecedentes de la invención

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

- Las especificidades novedosas en células T se han generado con éxito a través de la transferencia genética de receptores de células T transgénicas o receptores de antígeno quimérico (CAR) (Jena, Dotti *et al.* 2010). Los CAR son receptores sintéticos que consisten en un resto de direccionamiento que está asociado con uno o más dominios de señalización en una sola molécula de fusión. En general, el resto de unión de un CAR consiste en un dominio de
- 25 unión a antígeno de un anticuerpo de cadena sencilla (scFv), que comprende los fragmentos ligeros y variables de un anticuerpo monoclonal unidos por un ligador flexible. Los restos de unión basados en dominios de ligando o receptor también se han usado con éxito. Los dominios de señalización para los CAR de primera generación se derivan de la región citoplasmática de las cadenas gamma del receptor Fc o CD3zeta. Se ha demostrado que los
- 30 CAR de primera generación redirigen con éxito la citotoxicidad de las células T. Sin embargo, no pudieron proporcionar una expansión prolongada y una actividad antitumoral *in vivo*. Los dominios de señalización de moléculas coestimuladoras, así como los dominios transmembrana y bisagra se han añadido para formar CAR de segunda y tercera generación, lo que conduce a algunos ensayos terapéuticos exitosos en seres humanos, en los que las células T podían redirigirse contra células malignas que expresaban CD19 (June *et al.*, 2011). Sin embargo,
- 35 la combinación particular de dominios de señalización, dominios transmembrana y coestimuladores usados con respecto a scFv de CD19, era más bien específica de antígeno y no puede ampliarse a ningún marcador de antígeno.

- Según los datos de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. [<http://www.cdc.gov/cancer/colorectal/statistics/race.htm>], la incidencia de cáncer colorrectal en la población de los
- 40 EE.UU. durante el año 2011 fue de aproximadamente 50 por cada 100.000 personas para mujeres y de hasta 60 para hombres en la población de personas de raza negra, lo que conduce a una mortalidad del 50%. Esta incidencia sólo ha disminuido en un 10% en la última década.

- Un antígeno candidato de inmunoterapias para tumores sólidos, incluyendo el colorrectal, de ovario y gástrico, y también para tumores no sólidos tales como la leucemia linfoblástica aguda (LLA) infantil es la glicoproteína trofoblástica, también conocida como TPBG o 5T4 (UniProt: Q13641). 5T4 a menudo se denomina antígeno oncofetal debido a su expresión en trofoblasto fetal (donde se descubrió por primera vez) o glicoproteína trofoblástica (TPBG). La proteína 5T4 es una glicoproteína transmembrana N-glicosilada de 72 kDa que contiene siete regiones de repetición ricas en leucina (Hole *et al.* 1988). Se descubrió que el antígeno de 5T4 se expresaba en varios carcinomas incluyendo gástrico (Starzynska *et al.* 1995), de ovario y carcinoma (Wrigley *et al.* 1995).
- 50 Además, el antígeno oncofetal 5T4 se expresa en alto riesgo de recaída de leucemia linfoblástica aguda infantil de células B precursoras (Castro *et al.* 2012). Tiene una expresión muy limitada en el tejido normal, pero está muy extendido en los tumores malignos en todo su desarrollo (Carsberg *et al.* 1995).

Por tanto, los presentes inventores han considerado que 5T4 podría ser un antígeno diana valioso para tratar tumores sólidos tales como los tumores colorrectal, de ovario y gástrico, usando células T que expresan CAR.

- 55 Guest *et al.* (2005) describe un estudio sobre el papel de las regiones espaciadoras extracelulares en el diseño de receptores inmunitarios quiméricos (CIR).

Griffiths *et al.* (2005) describe un estudio sobre la expresión del antígeno oncofetal 5T4 en el carcinoma de células

renales usando un receptor quimérico de células T.

Jiang *et al.* (2006) describe un estudio sobre receptores inmunitarios quiméricos (CIR) contra el antígeno oncofetal 5T4.

5 Como alternativa a las estrategias anteriores, la presente invención proporciona CAR específicos de 5T4, que pueden expresarse en células inmunitarias para seleccionar como diana células malignas de 5T4 con una ventaja clínica significativa.

Todavía existe la necesidad de mejorar la funcionalidad de CAR mediante el diseño de la arquitectura de CAR y el uso de componentes adecuados, ya que estos parámetros desempeñan un papel importante y puede ser necesario un ajuste fino.

10 Los inventores han descubierto que, al combinar la arquitectura de CAR con la elección de los componentes adecuados, podían obtener CAR de cadena sencilla de 5T4 específicos con alta citotoxicidad hacia las células diana cancerosas.

Sumario de la invención

15 Los inventores han generado un CAR específico de 5T4 que tiene una estructura diferente y que comprende un scFV diferente derivado de diferentes anticuerpos específicos de 5T4.

En el marco de la presente invención, han diseñado e implementado un CAR específico de 5T4 que tiene la estructura polipeptídica V3 tal como se ilustra en la figura 2, comprendiendo dicha estructura un dominio de unión a ligando extracelular que comprende VH y VL de un anticuerpo monoclonal anti-5T4, una región bisagra de CD8 α , un dominio transmembrana de CD8 α y un dominio citoplasmático que incluye un dominio de señalización CD3 zeta y un dominio coestimulador de 4-1BB. Los polipéptidos de CAR preferidos de la invención comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO. 21, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 33 y SEQ ID NO. 39. Tras la activación no específica *in vitro* (por ejemplo, con perlas recubiertas con anticuerpos anti-CD3/CD28 e IL2 recombinante), las células T de los donantes se han transformado con polinucleótidos que expresan estos CAR usando transducción viral. Los polipéptidos de CAR que tienen una estructura polipeptídica seleccionada de V3, V5, V1 (es decir, que tienen el dominio transmembrana de CD8 α) han mostrado los mejores e inesperados resultados.

En particular, los CAR específicos de 5T4 que contienen los scFv de los anticuerpos A1, A2, A3 y H8 representan candidatos adecuados para la inmunoterapia tal como se muestra por su actividad y especificidad sometidas a prueba contra líneas celulares tumorales seleccionadas que expresan el antígeno 5T4.

30 En determinados casos, las células T se modificaron por ingeniería genética adicionalmente para crear células T no alorreactivas, más especialmente mediante la alteración de un componente de TCR (receptores de células T $\alpha\beta$) para prevenir la reacción de injerto contra huésped.

Las células T modificadas por ingeniería genética resultantes presentaron reactividad *in vitro* contra células positivas para 5T4 en diversos grados, lo que demuestra que los CAR de la presente invención contribuyen a la activación dependiente de antígeno, y también a la proliferación, de las células T, haciéndolas útiles para la inmunoterapia.

35 Los polipéptidos y las secuencias de polinucleótidos que codifican para los CAR de la presente invención se detallan en la presente memoria descriptiva.

Las células inmunitarias modificadas por ingeniería genética de la presente invención son particularmente útiles para aplicaciones terapéuticas, tales como para tratar la leucemia linfocítica crónica o en tumores sólidos tales como tumores de mama, colon, pulmón y riñón.

40 Breve descripción de las figuras

Figura 1: representación esquemática de una célula inmunitaria modificada por ingeniería genética según la divulgación. La célula inmunitaria modificada por ingeniería genética presentada en esta figura es una célula T transducida con un polipéptido retroviral que codifica para CAR. Esta célula T se modifica por ingeniería genética adicionalmente para permitir un injerto mejor y más seguro en el paciente, que es opcional dentro del marco de la presente divulgación. El gen X puede ser, por ejemplo, un gen que expresa un componente de TCR (TCR α o TCR β), Y puede ser un gen implicado en la sensibilidad de las células T a fármacos inmunosupresores como CD52 (con respecto a Campath) o HPRT (con respeto a 6-tioguanina).

Figura 2: representación esquemática de la diferente arquitectura de CAR (V1 a V6).

50 Figuras 3 a 6: representación esquemática de los CAR de células T v1 a v6 según la figura 2 con las cadenas de VH y VL de los anticuerpos A1, A2, A3 y H8.

Figura 7: prueba de desgranulación de células T para ocho líneas de células T modificadas por ingeniería genética con CAR de 5T4 según la divulgación para evaluar su actividad.

Figura 8: lisis específica de células T para siete líneas de células T modificadas por ingeniería genética con CAR de 5T4 según la divulgación para evaluar su especificidad.

Tabla 1: secuencia de los diferentes componentes de CAR

Dominios funcionales	SEQ ID NO.	Secuencia de aminoácidos sin procesar
Péptido señal de CD8 α	SEQ ID NO. 1	MALPVTALLPLALLHAARP
Péptido señal alternativo	SEQ ID NO. 2	METDTLLLWVLLWVPGSTG
Región bisagra de Fc ϵ R1II γ	SEQ ID NO. 3	GLAVSTISSFFPPGYQ
Región bisagra de CD8 α	SEQ ID NO. 4	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACD
Región bisagra de IgG1	SEQ ID NO. 5	EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIART PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSEFLYSLKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Dominio transmembrana de CD8 α	SEQ ID NO. 6	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
Dominio transmembrana de 41BB	SEQ ID NO. 7	IISFFLALTSTALLFLFLTLRFSVV
Dominio intracelular de 41BB	SEQ ID NO. 8	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGG CEL
Dominio intracelular de CD3 ζ	SEQ ID NO. 9	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
Ligador G4Sx3	SEQ ID NO. 10	GGGGSGGGSGGGGS

Tabla 2: secuencia de las cadenas de VH y VL de diferentes scFv y sus respectivas CDR

Secuencias de scFv	SEQ ID NO.	Secuencia de aminoácidos sin procesar
Región variable de cadena pesada de H8	SEQ ID NO. 11	EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYIMHWVKSHGKSLEWIGRINP NNGVTLYNQFKDKAILTVDKSSTTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTMITNYVM DYWGQVTSVTVSS
	SEQ ID NO. 48	CDR1 GYSFTGY
	SEQ ID NO. 49	CDR2 INPNNGVT
	SEQ ID NO. 50	CDR3 ARSTMITNYVMDY
Región variable de cadena ligera de H8	SEQ ID NO. 12	SIVMTQTPTFLLVSAGDRVITITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPTLLISYTSSRY AGVPDRFIGSGYGTDFTFITSLQAEDLAVYFCQQDYNSPPTFGGGTKLEIKR
	SEQ ID NO. 51	CDR1 QSVSND
	SEQ ID NO. 52	CDR2 YTS
	SEQ ID NO. 53	CDR3 QQDYNSPPT
Región variable de cadena pesada de A1	SEQ ID NO. 13	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTNFGMNWVKQGPGEGLKWMGWIN TNTGEPRYAEFVKGRFAFSLETTASTAYLQINNKNEDTATYFCARDWDGAYFFD YWGQGTTLTVSS
	SEQ ID NO. 54	CDR1

		GYTFTNFG
	SEQ ID NO. 55	CDR2 INTNTGEP
	SEQ ID NO. 56	CDR3 ARDWDGAYFFDY
Región variable de cadena ligera de A1	SEQ ID NO. 14	SIVMTQTPKFLVLSAGDRVITITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNR YTGVPNRFSGSGYGTDFITISTVQAEDLALYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK
	SEQ ID NO. 57	CDR1 QSVSND
	SEQ ID NO. 58	CDR2 FAT
	SEQ ID NO. 59	CDR3 QQDYSSPWT
Región variable de cadena pesada de A2	SEQ ID NO. 15	QVQLQQSRPELVKPGASVKMSCKASGYFTDYVISWVKQRTGQGLEWIGEIYP GSNSIYYNEKFKGRATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYW GQGTTLTVSS
	SEQ ID NO. 60	CDR1 GYTFTDYV
	SEQ ID NO. 61	CDR2 IYPGSNSI
	SEQ ID NO. 62	CDR3 AMGGNYGFDY
Región variable de cadena ligera de A2	SEQ ID NO. 16	QIVLTQSPAIMASALGERVLTCTASSSVNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTNL ASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEMEADAATYCHQYHRSPLTFGAGTKLEIK
	SEQ ID NO. 63	CDR1 SSVNSNY
	SEQ ID NO. 64	CDR2 STS
	SEQ ID NO. 65	CDR3 HQYHRSPLT
Región variable de cadena pesada de A3	SEQ ID NO. 17	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKSNYYATYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRQWDY DVRAMNYWGQGTSTVSS
	SEQ ID NO. 66	CDR1 GFTFNTYA
	SEQ ID NO. 67	CDR2 IRSKSNYYAT
	SEQ ID NO. 68	CDR3 VRQWDYDVRAMNY
Región variable de cadena ligera de A3	SEQ ID NO. 18	DIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDVDTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWAST RLTGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKLEIK
	SEQ ID NO. 69	CDR1 QDVDTA
	SEQ ID NO. 70	CDR2 WAS
	SEQ ID NO. 71	CDR3 QQYSSYPYT

Tabla 3: CAR de estructura V-1

Designación de CAR	Estructura de CAR
-----------------------	-------------------

V-1	péptido señal (opcional)	VH	VL	región bisagra de FcεRIIIγ	TM de CD8α	IC de 41BB	CD de CD3ζ
scCAR-v1 de H8 (SEQ ID NO. 19)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 11	SEQ ID NO. 12	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v1 de A1 (SEQ ID NO. 25)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 13	SEQ ID NO. 14	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v1 de A2 (SEQ ID NO. 31)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 15	SEQ ID NO. 16	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v1 de A3 (SEQ ID NO. 37)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 17	SEQ ID NO. 18	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9

Tabla 4: CAR de estructura V-2

Designación de CAR	Estructura de CAR						
V-2	péptido señal (opcional)	VH	VL	región bisagra de FcεRIIIγ	TM de 41BB	IC de 41BB	CD de CD3ζ
scCAR-v2 de H8 (SEQ ID NO. 20)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 11	SEQ ID NO. 12	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v2 de A1 (SEQ ID NO. 26)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 13	SEQ ID NO. 14	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v2 de A2 (SEQ ID NO. 32)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 15	SEQ ID NO. 16	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v2 de A3 (SEQ ID NO. 38)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 17	SEQ ID NO. 18	SEQ ID NO. 3	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9

Tabla 5: CAR de estructura V-3

Designación de CAR	Estructura de CAR						
V-3	péptido señal (opcional)	VH	VL	región bisagra de CD8α	TM de CD8α	IC de 41BB	CD de CD3ζ
scCAR-v3 de H8 (SEQ ID NO. 21)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 11	SEQ ID NO. 12	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v3 de A1 (SEQ ID NO. 27)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 13	SEQ ID NO. 14	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v3 de A2 (SEQ ID NO. 33)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 15	SEQ ID NO. 16	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v3 de A3 (SEQ ID NO. 39)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 17	SEQ ID NO. 18	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9

Tabla 6: CAR de estructura V-4

Designación de CAR	Estructura de CAR						
V-4	péptido señal (opcional)	VH	VL	región bisagra de CD8α	TM de 41BB	IC de 41BB	CD de CD3ζ

scCAR-v4 de H8 (SEQ ID NO. 22)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 11	SEQ ID NO. 12	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v4 de A1 (SEQ ID NO. 28)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 13	SEQ ID NO. 14	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v4 de A2 (SEQ ID NO. 34)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 15	SEQ ID NO. 16	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v4 de A3 (SEQ ID NO. 40)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 17	SEQ ID NO. 18	SEQ ID NO. 4	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9

Tabla 7: CAR de estructura V-5

Designación de CAR	Estructura de CAR						
V-5	péptido señal (opcional)	VH	VL	región bisagra de IgG1	TM de CD8 α	IC de 41BB	CD de CD3 ζ
scCAR-v5 de H8 (SEQ ID NO. 23)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 11	SEQ ID NO. 12	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v5 de A1 (SEQ ID NO. 29)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 13	SEQ ID NO. 14	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v5 de A2 (SEQ ID NO. 35)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 15	SEQ ID NO. 16	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v5 de A3 (SEQ ID NO. 41)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 17	SEQ ID NO. 18	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 6	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9

Tabla 8: CAR de estructura V-6

Designación de CAR	Estructura de CAR						
V-6	péptido señal (opcional)	VH	VL	región bisagra de IgG1	TM de 41BB	IC de 41BB	CD de CD3 ζ
scCAR-v6 de H8 (SEQ ID NO. 24)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 11	SEQ ID NO. 12	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v6 de A1 (SEQ ID NO. 30)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 13	SEQ ID NO. 14	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v6 de A2 (SEQ ID NO. 36)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 15	SEQ ID NO. 16	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9
scCAR-v6 de A3 (SEQ ID NO. 42)	SEQ ID NO. 1	SEQ ID NO. 17	SEQ ID NO. 18	SEQ ID NO. 5	SEQ ID NO. 7	SEQ ID NO. 8	SEQ ID NO. 9

Descripción detallada de la invención

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

Todos los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento pueden usarse en la práctica o prueba de la presente invención, describiéndose los métodos y materiales adecuados en el presente documento. Los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitativos, a menos que se

especifique lo contrario.

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

Receptores de antígeno quimérico específicos de 5T4

La presente invención se refiere a nuevos diseños de receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-5T4 que comprende un dominio de unión a ligando extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de transducción de la señalización, tal como se define en las reivindicaciones.

El término "dominio de unión a ligando extracelular" tal como se usa en el presente documento se define como un oligopéptido o polipéptido que puede unirse a un ligando. Preferiblemente, el dominio podrá interactuar con una molécula de la superficie celular. Por ejemplo, el dominio de unión a ligando extracelular puede elegirse para reconocer un ligando que actúa como marcador de la superficie celular en células diana asociadas con un estado patológico particular. En una realización preferida, dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende un fragmento de anticuerpo de cadena sencilla (scFv) que comprende el fragmento variable ligero (V_L) y el pesado (V_H) de un anticuerpo anti-5T4 monoclonal específico de antígeno diana unido por un ligador flexible.

El dominio de unión a antígeno de los CAR de 5T4 de la invención puede ser cualquier dominio que se una al antígeno fuera del tejido incluyendo, pero no se limita a, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado y un fragmento funcional de los mismos.

Por el término "anticuerpo recombinante" tal como se usa en el presente documento, quiere decirse un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se genera usando tecnología de ADN recombinante, tal como, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo expresado por un bacteriófago, un sistema de expresión en levadura o un sistema de expresión en célula de mamífero, y más especialmente por una célula T transducida con un vector viral que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para las regiones CDR de un anticuerpo. El término también debe interpretarse como un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se ha generado mediante la síntesis de una molécula de ADN que codifica para el anticuerpo o fragmento de anticuerpo y cuya molécula de ADN expresa una proteína de anticuerpo o fragmento de anticuerpo, o una secuencia de aminoácidos que especifica el anticuerpo o fragmento de anticuerpo, en el que la secuencia de aminoácidos o de ADN se ha obtenido usando tecnología de secuencia de aminoácidos o de ADN recombinante o sintética que está disponible y se conoce bien en la técnica.

Por el término "anticuerpo monoclonal" tal como se usa en el presente documento, quiere decirse un anticuerpo producido por un clon celular hecho crecer en laboratorio, o bien de un hibridoma o bien de un linfocito transformado por virus, que es más abundante y uniforme que el anticuerpo natural y puede unirse específicamente a un solo sitio en el antígeno 5T4. Son anticuerpos mono-específicos que se producen por células inmunitarias idénticas que son todas clones de una célula parental única, a diferencia de los anticuerpos policlonales que se producen a partir de varias células inmunitarias diferentes. Los anticuerpos monoclonales tienen afinidad monovalente, en cuanto a que se unen al mismo epítipo.

En una realización preferida, dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende un fragmento de anticuerpo de cadena sencilla (scFv) que comprende el fragmento variable ligero (V_L) y el pesado (V_H) de un anticuerpo de 5T4 monoclonal específico de antígeno diana unido por un ligador flexible. Dichos V_L y V_H se seleccionan preferiblemente de los anticuerpos denominados H8, A1, A2 y A3 tal como se indica en la tabla 2. Se unen preferiblemente entre sí por un ligador flexible que comprende, por ejemplo, la secuencia SEQ ID NO. 10. En otras palabras, dichos CAR comprenden preferentemente un dominio de unión a ligando extracelular que comprende una secuencia polipeptídica que muestra una identidad de al menos el 90%, el 95%, el 97% o el 99% con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11 a SEQ ID NO: 18.

Según una realización preferida, el CAR específico de 5T4 según la presente invención contiene un dominio de unión a ligando extracelular, en el que dichos V_H y V_L tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%,

preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con SEQ ID NO: 13 (VH de A1) y SEQ ID NO: 14 (VL de A1).

Según otra realización preferida, el CAR específico de 5T4 según la presente invención contiene un dominio de unión a ligando extracelular, en el que dichos VH y VL tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%,
5 preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con SEQ ID NO: 15 (VH de A2) y SEQ ID NO: 16 (VL de A2).

Según otra realización preferida, el CAR específico de 5T4 según la presente invención contiene un dominio de unión a ligando extracelular, en el que dichos VH y VL tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%,
10 preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con SEQ ID NO: 17 (VH de A3) y SEQ ID NO: 18 (VL de A3).

Según otra realización preferida, el CAR específico de 5T4 según la presente invención contiene un dominio de unión a ligando extracelular, en el que dichos VH y VL tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%,
preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con la SEQ ID NO: 11 (VH de H18) y la SEQ ID NO: 12 (VL de H18).

15 La presente invención da a conocer un receptor de antígeno quimérico específico de 5T4 (CAR de 5T4) tal como anteriormente, en el que dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende cadenas de VH y VL que están humanizadas.

Por el término "anticuerpo humanizado" tal como se usa en el presente documento, quiere decirse que los polipéptidos incluyen una región variable de cadena pesada humanizada y una región variable de cadena ligera humanizada. Por ejemplo, los polipéptidos pueden incluir las regiones de entramado (FR) de las regiones variables de cadena ligera y pesada de un anticuerpo humano, mientras que conservan sustancialmente la especificidad de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal parental. La región variable de cadena pesada humanizada y/o la región variable de cadena ligera humanizada están humanizadas en al menos aproximadamente el 87%, humanizadas en al menos aproximadamente el 90%, humanizadas en al menos aproximadamente el 95%,
20 humanizadas en al menos aproximadamente el 98% o humanizadas en al menos aproximadamente el 100%, excluyendo las regiones determinantes de complementariedad (CDR). Las moléculas de polipéptidos de unión a antígeno pueden derivarse de donantes de anticuerpos monoclonales (por ejemplo, donantes de anticuerpos monoclonales de ratón) y pueden incluir CDR de los anticuerpos monoclonales (por ejemplo, CDR monoclonales de ratón).

30 Puede producirse un anticuerpo humanizado usando una variedad de técnicas conocidas en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a, injerto de CDR (véase, por ejemplo, la patente europea n.º EP 239.400; la publicación internacional n.º WO 91/09967; y las patentes estadounidenses n.ºs 5.225.539, 5.530.101 y 5.585.089), rebarnizado o rechapado (véanse, por ejemplo, las patentes europeas n.ºs EP 592.106 y EP 519.596; Padlan, 1991, Molecular Immunology, 28 (4/5): 489-498; Studnicka *et al.*, 1994, Protein Engineering, 7(6): 805-814), intercambio de cadenas (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.565.332) y técnicas dadas a conocer en, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US2005/0042664, la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US2005/0048617, la patente estadounidense n.º 6.407.213, la patente estadounidense n.º 5.766.886, la publicación internacional n.º WO 9317105. A menudo, los residuos de entramado en las regiones de entramado se sustituirán con el residuo correspondiente del anticuerpo donante de CDR para alterar, por ejemplo
35 mejorar, la unión a antígeno. Estas sustituciones de entramado se identifican mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante el modelado de las interacciones de la CDR y los residuos de entramado para identificar los residuos de entramado importantes para la unión a antígeno y la comparación de secuencias para identificar residuos de entramado inusuales en posiciones particulares. (Véase, por ejemplo, Queen *et al.*, patente estadounidense n.º 5.585.089).

45 Según una realización preferida, el CAR específico de 5T4 de la presente invención comprende cadenas de VH y VL que tienen al menos el 80%, preferiblemente el 90%, más preferiblemente en el que dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende:

- una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón H8 de SEQ ID NO. 48 (CDR1), SEQ ID NO. 49 (CDR2) y SEQ ID NO. 50 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón H18 de NO. 51 (CDR1), SEQ ID NO. 52 (CDR2) y SEQ ID NO: 53 (CDR3), o;
- una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A1 de SEQ ID NO. 54 (CDR1), SEQ ID NO. 55 (CDR2) y SEQ ID NO. 56 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A1 de NO. 57 (CDR1), SEQ ID NO. 58 (CDR2) y SEQ ID NO: 59 (CDR3), o;
- una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A2 de SEQ ID NO. 61 (CDR1), SEQ ID NO. 61 (CDR2) y SEQ ID NO. 63 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR

del anticuerpo monoclonal de ratón A2 de NO. 64 (CD1), SEQ ID NO. 65 (CD2) y SEQ ID NO: 65 (CDR3), o;

- una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A3 de SEQ ID NO. 66 (CDR1), SEQ ID NO. 67 (CDR2) y SEQ ID NO. 68 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A3 de NO. 69 (CDR1), SEQ ID NO. 70 (CDR2) y SEQ ID NO: 71 (CDR3).

La tabla 2 muestra las secuencias cadenas de VH y VL correspondientes a los anticuerpos anti-5T4 H8, A1, A2 y A3 y de sus respectivas CDR.

El dominio de transducción de señales o el dominio de señalización intracelular de un CAR según la presente invención es responsable de la señalización intracelular tras la unión del dominio de unión a ligando extracelular a la diana, dando como resultado la activación de la célula inmunitaria y la respuesta inmunitaria. En otras palabras, el dominio de transducción de señales es responsable de la activación de al menos una de las funciones efectoras normales de la célula inmunitaria en la que se expresa el CAR. Por ejemplo, la función efectora de una célula T puede ser una actividad citolítica o una actividad cooperadora que incluye la secreción de citocinas. Por tanto, el término “dominio de transducción de señales” se refiere a la porción de una proteína que transduce la señal de función de señal efectora y dirige a la célula para realizar una función especializada.

El dominio de transducción de la señalización del CAR comprende el dominio de señalización CD3zeta que tiene preferiblemente una secuencia de aminoácidos con una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente de al menos el 80%, más preferiblemente de al menos el 90%, el 95%, el 97% o el 99% con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9.

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

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

El dominio de transducción de señales del CAR de la presente invención comprende un dominio coestimulador de 4-1BB (GenBank: AAA53133.). En particular, el dominio de transducción de señales del CAR de la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que comprende una identidad de secuencia de al menos el 70%, preferiblemente de al menos el 80%, más preferiblemente de al menos el 90%, el 95%, el 97% o el 99% con la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8.

Un CAR según la presente invención se expresa en la membrana superficial de la célula. Por tanto, tal CAR comprende además un dominio transmembrana. Las características distintivas de los dominios transmembrana apropiados comprenden la capacidad de expresarse en la superficie de una célula, preferiblemente en la presente invención, una célula inmunitaria, en particular linfocitos o linfocitos citolíticos naturales (NK), e interactuar en conjunto para dirigir la respuesta celular de una célula inmunitaria contra una célula diana predefinida. El dominio transmembrana del CAR de la presente invención se deriva de la cadena alfa de CD8 humana (por ejemplo, NP_001139345.1). El dominio transmembrana comprende además una región bisagra entre dicho dominio de unión a ligando extracelular y dicho dominio transmembrana. El término “región bisagra” usado en el presente documento significa generalmente cualquier oligopéptido o polipéptido que funcione para unir el dominio transmembrana al dominio de unión a ligando extracelular. En particular, la región bisagra se usa para proporcionar más flexibilidad y accesibilidad para el dominio de unión a ligando extracelular. Una región bisagra puede comprender hasta 300 aminoácidos, preferiblemente de 10 a 100 aminoácidos y lo más preferiblemente de 25 a 50 aminoácidos. La región bisagra se deriva de toda o parte de la región extracelular de la cadena alfa de CD8. En una realización preferida, dicho dominio bisagra comprende una parte de la cadena alfa de CD8 humana a la que se hace referencia en esta

memoria descriptiva como SEQ ID NO. 4, o polipéptidos bisagra que presentan preferiblemente una identidad de secuencia de al menos el 80%, más preferiblemente de al menos el 90%, el 95%, el 97% o el 99% con este polipéptido.

- 5 Un CAR según la invención comprende un dominio transmembrana (TM) de CD8 α , que muestra preferiblemente una identidad de secuencia de al menos el 80% con el polipéptido de SEQ ID NO. 6.

La regulación por disminución o la mutación de antígenos diana se observa comúnmente en células cancerosas, creando variantes resistentes a pérdida de antígeno. Por tanto, para compensar la resistencia tumoral y hacer que la célula inmunitaria sea más específica para la diana, el CAR específico de 5T4 según la divulgación puede comprender otros dominios de unión a ligando extracelular, para unir simultáneamente diferentes elementos en la diana, aumentando así la activación y función de las células inmunitarias. En un caso, los dominios de unión a ligando extracelular pueden colocarse en tándem en el mismo polipéptido transmembrana, y opcionalmente pueden separarse mediante un ligador. En otro caso, dichos dominios de unión a ligando extracelular diferentes pueden colocarse en diferentes polipéptidos transmembrana que componen el CAR. En otro caso, la presente divulgación se refiere a una población de CAR, comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelular diferentes. En particular, la presente divulgación se refiere a un método de modificación por ingeniería genética de células inmunitarias que comprende proporcionar una célula inmunitaria y expresar en la superficie de dicha célula una población de CAR, comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelular diferentes. En otro caso particular, la presente divulgación se refiere a un método de modificación por ingeniería genética de una célula inmunitaria que comprende proporcionar una célula inmunitaria e introducir en dicha célula polinucleótidos que codifican para polipéptidos que componen una población de CAR, comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelular diferentes. Por población de CAR, quiere decirse al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis o más CAR, comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelular diferentes. Preferiblemente, los dominios de unión a ligando extracelular diferentes según la presente divulgación pueden unirse simultáneamente a diferentes elementos en la diana, aumentando así la activación y función de las células inmunitarias. La presente divulgación también se refiere a una célula inmunitaria aislada que comprende una población de CAR, comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelular diferentes.

El CAR específico de 5T4 según la invención tiene una estructura V3 tal como se muestra en la figura 2, que comprende una región bisagra de CD8 α y un dominio transmembrana de CD8 α .

Polinucleótidos, vectores:

- 30 La presente invención también se refiere a polinucleótidos, vectores que codifican para el CAR descrito anteriormente según la invención.

El polinucleótido puede consistir en un casete de expresión o vector de expresión (por ejemplo, un plásmido para su introducción en una célula huésped bacteriana, o un vector viral tal como un vector de baculovirus para la transfección de una célula huésped de insecto, o un vector plasmídico o viral tal como un lentivirus para la transfección de una célula huésped de mamífero).

En una realización particular, las diferentes secuencias de ácido nucleico pueden incluirse en un polinucleótido o vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para una secuencia de omisión ribosómica tal como una secuencia que codifica para un péptido 2A. Los péptidos 2A, que se identificaron en el subgrupo de picornavirus *Aphthovirus*, provocan una "omisión" ribosómica de un codón al siguiente sin la formación de un enlace peptídico entre los dos aminoácidos codificados por los codones (véase (Donnelly y Elliott 2001; Atkins, Wills *et al.* 2007; Doronina, Wu *et al.* 2008)). Por "codón" quiere decirse tres nucleótidos en un ARNm (o en la cadena sentido de una molécula de ADN) que se traducen por un ribosoma en un residuo de aminoácido. Por tanto, pueden sintetizarse dos polipéptidos a partir de un único marco abierto de lectura contiguo dentro de un ARNm cuando los polipéptidos están separados por una secuencia de oligopéptido 2A que está en el marco. Tales mecanismos de omisión ribosómica se conocen bien en la técnica y se sabe que se usan por varios vectores para la expresión de varias proteínas codificadas por un solo ARN mensajero.

Para dirigir el polipéptido transmembrana a la ruta secretora de una célula huésped, se proporciona una secuencia señal secretora (también conocida como secuencia líder, secuencia prepro o secuencia pre) en la secuencia de polinucleótidos o secuencia de vectores. La secuencia de señal secretora está operativamente unida a la secuencia de ácido nucleico transmembrana, es decir, las dos secuencias se unen en el marco de lectura correcto y se colocan para dirigir el polipéptido recién sintetizado a la ruta secretora de la célula huésped. Las secuencias señal secretoras se colocan comúnmente en el sentido 5' con respecto a la secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido de interés, aunque determinadas secuencias señal secretoras pueden colocarse en otra parte de la secuencia de ácido nucleico de interés (véase, por ejemplo, Welch *et al.*, patente estadounidense n.º 5.037.743; Holland *et al.* patente estadounidense n.º 5.143.830). En una realización preferida, el péptido señal comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 y 2.

Los expertos en la técnica reconocerán que, en vista de la degeneración del código genético, es posible una variación de secuencia considerable entre estas moléculas de polinucleótidos. Preferiblemente, las secuencias de

ácido nucleico de la presente invención tienen codones optimizados para la expresión en células de mamífero, preferiblemente para la expresión en células humanas. La optimización de codones se refiere al intercambio en una secuencia de interés de codones que generalmente son raros en genes altamente expresados de una especie dada por codones que generalmente son frecuentes en genes altamente expresados de tales especies, codificando tales codones para los aminoácidos a medida que los codones se van intercambiando.

Métodos de modificación por ingeniería genética de células inmunitarias dotadas de CAR:

La presente divulgación abarca el método de preparación de células inmunitarias para inmunoterapia que comprende introducir *ex vivo* en dichas células inmunitarias los polinucleótidos o vectores que codifican para uno de los CAR de 5T4 tal como se describió previamente.

Preferiblemente, dichos polinucleótidos se incluyen en vectores lentivirales en vista de expresarse de manera estable en las células inmunitarias.

Dicho método puede comprender además la etapa de modificar genéticamente dicha célula para hacerla más adecuada para el trasplante alogénico.

Según un primer aspecto, la célula inmunitaria puede hacerse alogénica, por ejemplo, inactivando al menos un gen que expresa uno o más componentes del receptor de células T (TCR) tal como se describe en el documento WO 2013/176915, que puede combinarse con la inactivación de un gen que codifica para o regula la expresión de la proteína HLA o $\beta 2m$. Por consiguiente, el riesgo de síndrome de injerto contra huésped y el rechazo del injerto se reducen significativamente.

Según otro aspecto, las células inmunitarias pueden modificarse genéticamente además para mejorar su resistencia a fármacos inmunosupresores o tratamientos de quimioterapia, que se usan como normas asistenciales para tratar células malignas positivas para 5T4. Por ejemplo, los receptores de CD52 y glucocorticoides (GR), que son dianas farmacológicas de Campath (alemtuzumab) y los tratamientos con glucocorticoides, pueden inactivarse para hacer que las células sean resistentes a estos tratamientos y darles una ventaja competitiva sobre las propias células T del paciente no dotadas de CAR de 5T4 específicos. La expresión del gen CD3 también puede suprimirse o reducirse para conferir resistencia a teplizumab, que es otro fármaco inmunosupresor. La expresión de HPRT también puede suprimirse o reducirse según la invención para conferir resistencia a la 6-tioguanina, un agente citostático que se usa comúnmente en quimioterapia, especialmente para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.

Según otro aspecto de la divulgación, las células inmunitarias pueden manipularse además para hacerlas más activas o limitar el agotamiento, inactivando genes que codifican para proteínas que actúan como "puntos de control inmunitarios" que actúan como reguladores de la activación de células T, tales como PDCD1 o CTLA-4. En la tabla 9 se indican ejemplos de genes, cuya expresión podría reducirse o suprimirse.

Tabla 9: lista de genes que codifican para proteínas de punto de control inmunitario.

Ruta		Genes que pueden inactivarse en la ruta
Receptores coinhibidores	CTLA4 (CD152)	CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22
	PDCD1 (PD-1, CD279)	PDCD1
	CD223 (lag3)	LAG3
	HAVCR2 (tim3)	HAVCR2
	BTLA (cd272)	BTLA
	CD160 (by55)	CD160
	Familia de IgSF	TIGIT
		CD96
		CRTAM
	LAIR1 (cd305)	LAIR1
	SIGLEC	SIGLEC7
		SIGLEC9
Receptores de muerte	CD244 (2b4)	CD244
	TRAIL	TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7
	FAS	FADD, FAS

Señalización de citocinas	Señalización de TGF-beta	TGFBRII, TGFBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1
	Señalización IL10	IL10RA, IL10RB, HMOX2
	Señalización IL6	IL6R, IL6ST
Prevención de la señalización de TCR		CSK, PAG1
		SIT1
Treg inducido	Treg inducido	FOXP3
Factores de transcripción que controlan el agotamiento	factores de transcripción que controlan el agotamiento	PRDM1 (=blimp1, los ratones heterocigóticos controlan la infección viral crónica mejor que los silvestres o los de genes inactivados condicionales)
		BATF
Tolerancia mediada por hipoxia	ciclase guanilada inducida por iNOS	GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3

Preferiblemente, dicho método de modificación por ingeniería genética adicional de las células inmunitarias implica la introducción de polinucleótidos en dichas células T, en particular ARNm, que codifican para endonucleasa de corte raro específica para inactivar selectivamente los genes, tales como los mencionados anteriormente, por escisión de ADN. En un aspecto más preferido, dichas endonucleasas de corte raro son nucleasas TALE o endonucleasa Cas9. Las nucleasas TAL han demostrado hasta ahora una mayor especificidad y eficacia de escisión con respecto a los otros tipos de endonucleasas de corte raro, lo que las convierte en las endonucleasas de elección para producir células inmunitarias modificadas por ingeniería genética a gran escala con una renovación constante.

Métodos de administración

Los diferentes métodos descritos anteriormente implican la introducción de CAR en una célula. Como ejemplo no limitativo, dicho CAR puede introducirse como transgenes codificados por un vector plasmídico. Dicho vector plasmídico también puede contener un marcador de selección que proporciona identificación y/o selección de células que recibieron dicho vector.

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

Células inmunitarias modificadas por ingeniería genética

La presente divulgación también se refiere a células aisladas o líneas celulares susceptibles de obtenerse mediante dicho método para modificar células por ingeniería genética. En particular, dicha célula aislada comprende al menos un CAR tal como se describió anteriormente. En otro caso, dicha célula aislada comprende una población de CAR, comprendiendo cada uno dominios de unión a ligando extracelular diferentes. En particular, dicha célula aislada comprende una secuencia de polinucleótidos exógenos que codifica para CAR. Las células inmunitarias modificadas genéticamente de la presente divulgación se activan y proliferan independientemente de los mecanismos de unión a antígeno.

En el alcance de la presente invención también se abarca un sistema inmunitario aislado tal como se define por las reivindicaciones, preferiblemente una célula T obtenida según uno cualquiera de los métodos descritos previamente. Dicha célula inmunitaria se refiere a una célula de origen hematopoyético implicada funcionalmente en el inicio y/o la ejecución de la respuesta inmunitaria innata y/o adaptativa. Dicha célula inmunitaria según la presente invención puede derivarse de una célula madre. Las células madre pueden ser células madre adultas, células madre embrionarias no humanas, más particularmente células madre no humanas, células madre de sangre del cordón umbilical, células progenitoras, células madre de médula ósea, células madre pluripotentes inducidas, células madre totipotentes o células madre hematopoyéticas. Las células humanas representativas son células CD34+. Dicha célula aislada también puede ser una célula dendrítica, una célula dendrítica citolítica, un mastocito, una célula NK, una célula B o una célula T seleccionada del grupo que consiste en linfocitos T inflamatorios, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T reguladores o linfocitos T cooperadores. En otra realización, dicha célula puede derivarse del grupo que

consiste en linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. Antes de la expansión y modificación genética de las células, puede obtenerse una fuente de células de un sujeto a través de una variedad de métodos no limitativos. Las células pueden obtenerse de varias fuentes no limitativas, incluyendo células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de los ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores. En determinados aspectos, puede usarse cualquier número de líneas de células T disponibles y conocidas por los expertos en la técnica. En otro aspecto, dicha célula puede derivarse de un donante sano, de un paciente diagnosticado con cáncer o de un paciente diagnosticado con una infección. En otro aspecto, dicha célula forma parte de una población mixta de células que presentan diferentes características fenotípicas. En el alcance de la presente divulgación también se incluye una línea celular obtenida de una célula T transformada según el método descrito previamente. Las células modificadas resistentes a un tratamiento inmunosupresor y susceptibles de obtenerse por el método anterior están abarcadas en el alcance de la presente divulgación.

Como aspecto preferido, la presente divulgación proporciona células T o una población de células T dotadas de un CAR de 5T4 tal como se describió anteriormente, que no expresan TCR funcional y que son reactivas hacia las células positivas para 5T4, para su trasplante alogénico en pacientes.

Activación y expansión de células T

Ya sea antes o después de la modificación genética de las células T, incluso si las células inmunitarias modificadas genéticamente de la presente invención se activan y proliferan independientemente de los mecanismos de unión a antígeno, las células inmunitarias, particularmente las células T de la presente invención, pueden activarse adicionalmente y expandirse usando generalmente métodos tal como se describe, por ejemplo, en las patentes estadounidenses 6.352.694; 6.534.055; 6.905.680; 6.692.964; 5.858.358; 6.887.466; 6.905.681; 7.144.575; 7.067.318; 7.172.869; 7.232.566; 7.175.843; 5.883.223; 6.905.874; 6.797.514; 6.867.041; y la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 20060121005. Las células T pueden expandirse *in vitro*.

Generalmente, las células T de la invención se expanden por contacto con un agente que estimula un complejo CD3 TCR y una molécula coestimuladora en la superficie de las células T para crear una señal de activación para la célula T. Por ejemplo, pueden usarse productos químicos como ionóforo de calcio A23187, 12-miristato y 13-acetato de forbol (PMA) o lectinas mitógenas como fitohemaglutinina (PHA) para crear una señal de activación para la célula T.

Como ejemplos no limitativos, las poblaciones de células T pueden estimularse *in vitro* tal como por contacto con un anticuerpo anti-CD3, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un anticuerpo anti-CD2 inmovilizado en una superficie, o por contacto con un activador de la proteína cinasa C (por ejemplo, briostatina) junto con un ionóforo de calcio. Para la coestimulación de una molécula accesoria en la superficie de las células T, se usa un ligando que se une a la molécula accesoria. Por ejemplo, una población de células T puede ponerse en contacto con un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28, en condiciones apropiadas para estimular la proliferación de las células T. Las condiciones apropiadas para el cultivo de células T incluyen un medio apropiado (por ejemplo, medio esencial mínimo o medio RPMI 1640 o, X-vivo 5, (Lonza)) que puede contener factores necesarios para la proliferación y la viabilidad, incluyendo suero (por ejemplo, suero fetal bovino o humano), interleucina-2 (IL-2), insulina, IFN- γ , 1L-4, 1L-7, GM-CSF, -10, -2, 1L-15, TGF β y TNF- α o cualquier otro aditivo para el crecimiento de células conocido por el experto en la técnica. Otros aditivos para el crecimiento de células incluyen, pero no se limitan a, tensioactivo, plasmanato y agentes reductores tales como N-acetilcisteína y 2-mercaptoetanol.

Los medios pueden incluir RPMI 1640, A1M-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 1 y X-Vivo 20, Optimizer, con aminoácidos añadidos, piruvato de sodio y vitaminas, o bien sin suero o bien complementados con una cantidad apropiada de suero (o plasma) o un conjunto definido de hormonas, y/o una cantidad de citocina(s) suficiente para el crecimiento y la expansión de células T. Los antibióticos, por ejemplo, penicilina y estreptomycin, se incluyen sólo en cultivos experimentales, no en cultivos de células que se infunden en un sujeto. Las células diana se mantienen en condiciones necesarias para soportar el crecimiento, por ejemplo, una temperatura apropiada (por ejemplo, 37°C) y atmósfera (por ejemplo, aire más el 5% de CO₂). Las células T que se han expuesto a tiempos de estimulación variados pueden presentar características diferentes.

En otro aspecto particular, dichas células pueden expandirse mediante cultivo conjunto con tejido o células.

Aplicaciones terapéuticas

En otro aspecto, la célula aislada obtenida mediante los diferentes métodos o la línea celular derivada de dicha célula aislada tal como se describió previamente se prevén para su uso como medicamento. En otro aspecto, dicho medicamento puede ser para su uso en el tratamiento de cáncer, particularmente para su uso en el tratamiento de carcinoma y leucemia en un paciente que lo necesita. En otro aspecto, dicha célula aislada según la invención o línea celular derivada de dicha célula aislada puede usarse en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer en un paciente que lo necesita.

Dicho tratamiento puede ser de mejora, curativo o profiláctico. Puede formar o bien parte de una inmunoterapia autóloga o bien parte de un tratamiento de inmunoterapia alogénica. Por autólogo, quiere decirse que las células, la

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

- 5 Dicho tratamiento puede ser útil para tratar pacientes diagnosticados en los que un estado de cáncer premaligno o maligno caracterizado por células que expresan 5T4, especialmente por un exceso de células que expresan 5T4. Tales estados se encuentran en cánceres sólidos o en cánceres hematológicos, tales como leucemia linfoblástica aguda infantil de células B precursoras.

Los tumores sólidos pueden ser tumores gástricos, tumores colorrectales, tumores de próstata, tumores de mama, tumores de pulmón, tumores renales o tumores de ovario.

- 10 Más específicamente, dicho tratamiento puede ser útil para el cáncer de próstata progresivo resistente a hormonas en combinación o no de fármaco(s) tal(es) como docetaxel o factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF).

- 15 Además, la célula T modificada por ingeniería genética de la invención puede ser útil para tratar tumores sólidos avanzados tales como cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma renal de células claras o cáncer de páncreas, junto con otro(s) fármaco(s) tal(es) como interleucina-2 (IL-2), docetaxel o pemetrexed/cisplatino.

Además, la célula T modificada por ingeniería genética de la invención puede ser útil para tratar cáncer de próstata con o sin ciclofosfamida.

El trastorno linfoproliferativo puede ser leucemia, en particular leucemia linfoblástica aguda infantil de células B precursoras.

- 20 Los cánceres que pueden tratarse pueden comprender tumores no sólidos (tales como tumores hematológicos, que incluyen, pero no se limitan a, LLA de células B precursoras (indicación pediátrica), LLA adulta, linfoma de células del manto, linfoma difuso de células B grandes y similares. Los tipos de cánceres que van a tratarse con los CAR de la invención incluyen, pero no se limitan a, leucemia o tumores malignos linfoides. También se incluyen tumores/cánceres adultos y tumores/cánceres pediátricos.

- 25 Además, los tumores sólidos tales como tumores de estómago, colon y ovario pueden tratarse mediante los CAR de la invención

El tratamiento con las células inmunitarias modificadas por ingeniería genética según la invención puede combinarse con una o más terapias contra el cáncer seleccionadas del grupo de terapia con anticuerpos, quimioterapia, terapia con citocinas, terapia con células dendríticas, terapia génica, terapia hormonal, terapia con luz láser y radioterapia.

- 30 Según una realización preferida de la invención, dicho tratamiento puede administrarse a pacientes sometidos a un tratamiento inmunosupresor. De hecho, la presente invención se basa preferiblemente en células o una población de células, que se han hecho resistentes a al menos un agente inmunosupresor debido a la inactivación de un gen que codifica para un receptor para tal agente inmunosupresor. En este aspecto, el tratamiento inmunosupresor debería ayudar a la selección y expansión de las células T según la invención dentro del paciente.

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

- 40 La administración de las células o la población de células puede consistir en la administración de 10^4 - 10^9 células por kg de peso corporal, preferiblemente de 10^5 a 10^6 células/kg de peso corporal, incluyendo todos los valores enteros de números de células dentro de esos intervalos. Las células o la población de células pueden administrarse en una o más dosis. En otra realización, dicha cantidad eficaz de células se administra como una única dosis. En otra realización, dicha cantidad eficaz de células se administra como más de una dosis durante un periodo de tiempo. El momento de la administración está dentro del criterio del médico responsable y depende del estado clínico del paciente. Las células o la población de células pueden obtenerse de cualquier fuente, tal como un banco de sangre o un donante. Aunque las necesidades individuales varían, la determinación de los intervalos óptimos de cantidades eficaces de un tipo celular dado para una enfermedad o estados particulares dentro de la habilidad de la técnica.
- 45 Una cantidad eficaz significa una cantidad que proporciona un beneficio terapéutico o profiláctico. La dosificación administrada dependerá de la edad, la salud y el peso del receptor, el tipo de tratamiento concurrente, si lo hay, la frecuencia del tratamiento y la naturaleza del efecto deseado.
- 50 En otra realización, dicha cantidad eficaz de células o composición que comprende esas células se administran por vía parenteral. Dicha administración puede ser una administración intravenosa. Dicha administración puede realizarse directamente mediante inyección dentro de un tumor.

- 55

En determinadas realizaciones de la presente invención, las células son para su administración a un paciente junto con (por ejemplo, antes, simultáneamente o tras) cualquier número de modalidades de tratamiento relevantes, que incluyen, pero no se limitan a, tratamiento con agentes tales como terapia antiviral, cidofovir e interleucina-2, tratamiento con citarabina (también conocida como ARA-C) o natalizimab para pacientes con EM o tratamiento con efaliztimab para pacientes con psoriasis u otros tratamientos para pacientes con LMP. En realizaciones adicionales, las células T de la invención pueden usarse en combinación con quimioterapia, radiación, agentes inmunosupresores, tales como ciclosporina, azatioprina, metotrexato, micofenolato y FK506, anticuerpos u otros agentes inmunosupresores tales como CAMPATH, anticuerpos anti-CD3 u otras terapias con anticuerpos, citoxina, fludarabina, ciclosporina, FK506, rapamicina, ácido micoplenólico, esteroides, FR901228, citocinas e irradiación. Estos fármacos inhiben o bien la fosfatasa dependiente de calcio calcineurina (ciclosporina y FK506) o bien inhiben la cinasa p70S6 que es importante para la señalización inducida por factores de crecimiento (rapamicina) (Henderson, Naya *et al.* 1991; Liu, Albers *et al.* 1992; Bierer, Hollander *et al.* 1993). Las composiciones celulares pueden ser para su administración a un paciente junto con (por ejemplo, antes, simultáneamente o tras) trasplante de médula ósea, terapia de ablación de células T usando o bien agentes quimioterápicos tales como fludarabina, radioterapia de haz externo (XRT), ciclofosfamida, o bien anticuerpos tales como OKT3 o CAMPATH. Las composiciones celulares pueden ser para su administración después de una terapia ablativa de células B, tales como agentes que reaccionan con CD20, por ejemplo, Rituxan. Por ejemplo, los sujetos pueden someterse a un tratamiento convencional con dosis altas de quimioterapia seguido de trasplante de células madre de sangre periférica. Tras el trasplante, los sujetos pueden recibir una infusión de las células inmunitarias expandidas de la presente invención. En una realización adicional, las células expandidas son para su administración antes o tras la cirugía.

Otras definiciones

Los residuos de aminoácidos en una secuencia polipeptídica se designan en el presente documento según el código de una letra, en el que, por ejemplo, Q significa residuo de Gln o glutamina, R significa residuo de Arg o arginina y D significa residuo de Asp o ácido aspártico.

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

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

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

Por receptor de antígeno quimérico (CAR) quiere decirse moléculas que combinan un dominio de unión contra un componente presente en la célula diana, por ejemplo, una especificidad basada en anticuerpos para un antígeno deseado (por ejemplo, antígeno tumoral) con un dominio intracelular de activación del receptor de células T para generar una proteína quimérica que presenta una actividad inmunitaria celular anti-diana específica. En general, el CAR consiste en un anticuerpo extracelular de cadena sencilla (scFvFc), fusionado con el dominio de señalización intracelular de la cadena zeta compleja del receptor de antígeno de células T (scFvFc:ζ) y tiene la capacidad, cuando se expresa en células T, de redirigir el reconocimiento de antígeno basándose en la especificidad del anticuerpo monoclonal. El CAR a veces puede comprender múltiples polipéptidos transmembrana (CAR multicadena) tal como se describe en el documento WO2014039523. Un ejemplo de CAR usado en la presente divulgación es un CAR que se dirige contra el antígeno de 5T4 y puede comprender como ejemplo no limitativo las secuencias de aminoácidos: SEQ ID NO: 19 a 42.

– El término “endonucleasa” se refiere a cualquier enzima silvestre o variante que puede catalizar la hidrólisis (escisión) de enlaces entre ácidos nucleicos dentro de una molécula de ADN o ARN, preferiblemente una molécula de ADN. Las endonucleasas no escinden la molécula de ADN o ARN independientemente de su secuencia, pero reconocen y escinden la molécula de ADN o ARN en secuencias de polinucleótidos específicas, también denominadas “secuencias diana” o “sitios diana”. Las endonucleasas pueden clasificarse como endonucleasas de corte raro cuando tienen normalmente un sitio de reconocimiento de polinucleótidos mayor de 12 pares de bases (pb) de longitud, más preferiblemente de 14-55 pb. Las endonucleasas de corte raro aumentan significativamente HR al inducir roturas de doble cadena de ADN (DSB) en un locus definido (Perrin, Buckle *et al.* 1993; Rouet, Smih *et al.* 1994; Chouluka, Perrin *et al.* 1995; Pingoud y Silva 2007). Las endonucleasas de corte raro pueden ser, por ejemplo, una endonucleasa de asentamiento (Paques y Duchateau 2007), una nucleasa quimérica de dedos de zinc (ZFN) resultante de la fusión de dominios de dedos de zinc modificados por ingeniería genética con el dominio catalítico de una enzima de restricción tal como FokI (Porteus y Carroll 2005), una endonucleasa Cas9 del sistema CRISPR (Gasiunas, Barrangou *et al.* 2012; Jinek, Chylinski *et al.* 2012; Cong, Ran *et al.* 2013; Mali, Yang *et al.* 2013) o una endonucleasa química (Eisenschmidt, Lanio *et al.* 2005; Arimondo, Thomas *et al.* 2006). En las endonucleasas químicas, se conjuga un agente escisión químico o peptídico con un polímero de ácidos nucleicos o con otro ADN que reconoce una secuencia diana específica, dirigiendo así la actividad de escisión a una secuencia específica. Las endonucleasas químicas también abarcan nucleasas sintéticas como conjugados de ortofenantrolina, una molécula de escisión de ADN y oligonucleótidos formadores de triplex (TFO), conocidos por unirse a secuencias de ADN específicas (Kalish y Glazer 2005). Tales endonucleasas químicas están comprendidas en el término “endonucleasa”.

– Por una “nucleasa TALE” (TALEN) quiere decirse una proteína de fusión que consiste en un dominio de unión a ácido nucleico derivado normalmente de un efector de tipo activador de la transcripción (TALE) y un dominio catalítico de nucleasa para escindir una secuencia diana de ácido nucleico. El dominio catalítico es preferiblemente un dominio de nucleasa y más preferiblemente un dominio que tiene actividad de endonucleasa, como por ejemplo I-TevI, ColE7, NucA y Fok-I. En particular, el dominio TALE puede fusionarse con una meganucleasa como, por ejemplo, I-CreI e I-OnuI, o una variante funcional de las mismas. En un ejemplo más preferido, dicha nucleasa es una nucleasa TALE monomérica. Una nucleasa TALE monomérica es una nucleasa TALE que no requiere dimerización para el reconocimiento y la escisión específicos, tal como las fusiones de repeticiones TAL modificadas por ingeniería genética con el dominio catalítico de I-TevI descritas en el documento WO2012138927. El efector de tipo activador de la transcripción (TALE) son proteínas de la especie bacteriana *Xanthomonas* que comprenden una pluralidad de secuencias de repetición, comprendiendo cada repetición di-residuos en la posición 12 y 13 (RVD) que son específicos para cada base de nucleótidos de la secuencia dirigida a ácido nucleico. Los dominios de unión con propiedades de unión a ácido nucleico modulares base por base similares (MBBBD) también pueden derivarse de nuevas proteínas modulares descubiertas recientemente por el solicitante en una especie bacteriana diferente. Las nuevas proteínas modulares tienen la ventaja de mostrar más variabilidad de secuencia que las repeticiones TAL. Preferiblemente, los RVD asociados con el reconocimiento de los diferentes nucleótidos son HD para reconocer C, NG para reconocer T, NI para reconocer A, NN para reconocer G o A, NS para reconocer A, C, G o T, HG para reconocer T, IG para reconocer T, NK para reconocer G, HA para reconocer C, ND para reconocer C, HI para reconocer C, HN para reconocer G, NA para reconocer G, SN para reconocer G o A e YG para reconocer T, TL para reconocer A, VT para reconocer A o G y SW para reconocer A. Los aminoácidos 12 y 13 críticos pueden mutarse hacia otros residuos de aminoácidos para modular su especificidad hacia los nucleótidos A, T, C y G y, en particular, para mejorar esta especificidad. La nucleasa TALE ya se ha descrito y usado para estimular el direccionamiento génico y modificaciones génicas (Boch, Scholze *et al.* 2009; Moscou y Bogdanove 2009; Christian, Cermak *et al.* 2010; Li, Huang *et al.* 2011). Las nucleasas TAL personalizadas están disponibles comercialmente con el nombre comercial TALEN™ (Collectis, 8 rue de la Croix Jarry, 75013 París, Francia).

La endonucleasa de corte raro también puede ser una endonucleasa Cas9. Recientemente, se ha desarrollado una nueva herramienta de modificación por ingeniería genética del genoma basada en la nucleasa Cas9 guiada por ARN (Gasiunas, Barrangou *et al.* 2012; Jinek, Chylinski *et al.* 2012; Cong, Ran *et al.* 2013; Mali, Yang *et al.* 2013) del sistema inmunitario adaptativo CRISPR procarionota tipo II (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas) (véase para una revisión (Sorek, Lawrence *et al.* 2013)). El sistema asociado a CRISPR (Cas) se descubrió por primera vez en bacterias y funciona como una defensa contra el ADN foráneo, o bien viral o bien plasmídico. La modificación por ingeniería genética del genoma mediada por CRISPR procede en primer lugar mediante la selección de la secuencia diana a menudo flanqueada por un motivo de secuencia corta, denominado motivo adyacente protoespaciador (PAM). Tras la selección de la secuencia diana, se diseña un ARNcr específico, complementario a esta secuencia diana. El ARNcr de transactivación (ARNtracr) requerido en los sistemas CRISPR tipo II apareados con el ARNcr y unidos a la proteína Cas9 proporcionada. Cas9 actúa como un ancla molecular que facilita el apareamiento de bases de ARNtracr con ARNc (Deltcheva, Chylinski *et al.* 2011). En este complejo ternario, la estructura dual ARNtracr:ARNcr actúa como ARN guía que dirige la endonucleasa Cas9 a la secuencia diana relacionada. El reconocimiento de la diana por el complejo Cas9-ARNtracr:ARNcr se inicia examinando la secuencia diana para determinar la homología entre la secuencia diana y el ARNcr. Además de la complementariedad de la secuencia diana-ARNc, el direccionamiento de ADN requiere la presencia de un motivo corto adyacente al protoespaciador (motivo adyacente protoespaciador, PAM). Tras el apareamiento entre el ARN dual y la secuencia diana, Cas9 introduce posteriormente una rotura de cadena doble roma 3 bases en el sentido de 5' del motivo PAM (Garneau, Dupuis *et al.* 2010).

La endonucleasa de corte raro puede ser una endonucleasa de asentamiento, también conocida con el nombre de meganucleasa. Tales endonucleasas de asentamiento se conocen bien en la técnica (Stoddard 2005). Las endonucleasas de asentamiento reconocen una secuencia diana de ADN y generan una rotura de cadena sencilla o doble. Las endonucleasas de asentamiento son altamente específicas, reconocen sitios diana de ADN que oscilan entre 12 y 45 pares de bases (pb) de longitud, generalmente de 14 a 40 pb de longitud. La endonucleasa de asentamiento puede corresponder, por ejemplo, a una endonucleasa LAGLIDADG, a una endonucleasa HNH o a una endonucleasa GIY-YIG. La endonucleasa de asentamiento preferida puede ser una variante de *I-CreI*.

– Por “vector de administración” o “vectores de administración” quiere decirse cualquier vector de administración que puede usarse en la presente invención para poner en contacto celular (es decir, “poner en contacto”) o administrar dentro de células o compartimentos subcelulares (es decir, “introducir”) agentes/productos químicos y moléculas (proteínas o ácidos nucleicos) necesarios en la presente invención. Incluye, pero no se limita a, vectores de administración de liposomas, vectores de administración de virus, vectores de administración de fármacos, portadores químicos, portadores poliméricos, lipoplejos, poliplexos, dendrímeros, microburbujas (agentes de contraste para ecografía), nanopartículas, emulsiones u otros vectores de transferencia apropiados. Estos vectores de administración permiten la administración de moléculas, productos químicos, macromoléculas (genes, proteínas) u otros vectores tales como plásmidos, péptidos desarrollados por Diatos. En estos casos, los vectores de administración son portadores de moléculas. Por “vector de administración” o “vectores de administración” también quiere decirse métodos de administración para realizar la transfección.

– Los términos “vector” o “vectores” se refieren a una molécula de ácido nucleico que puede transportar otro ácido nucleico al que se ha unido. Un “vector” incluye, pero no se limita a, un vector viral, un plásmido, un vector de ARN o una molécula de ADN o ARN lineal o circular que puede consistir en ácidos nucleicos cromosómicos, no cromosómicos, semisintéticos o sintéticos. Los vectores preferidos son aquellos capaces de replicación autónoma (vector episomal) y/o expresión de ácidos nucleicos a los que están unidos (vectores de expresión). Los expertos en la técnica conocen un gran número de vectores adecuados y están disponibles comercialmente.

Los vectores virales incluyen retrovirus, adenovirus, parvovirus (por ejemplo, virus adenoasociados), coronavirus, virus de ARN de cadena negativa tales como ortomixovirus (por ejemplo, virus de la gripe), rabdovirus (por ejemplo, rabia y virus de la estomatitis vesicular), paramixovirus (por ejemplo, sarampión y Sendai), virus de ARN de cadena positiva tales como picornavirus y alfavirus, y virus de ADN bicatenario que incluyen adenovirus, herpesvirus (por ejemplo, virus del herpes simple tipos 1 y 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus) y poxvirus (por ejemplo, virus vacuna, viruela aviar y viruela de canario). Otros virus incluyen el virus Norwalk, togavirus, flavivirus, reovirus, papovavirus, hepadnavirus y virus de la hepatitis, por ejemplo. Los ejemplos de retrovirus incluyen: leucosis-sarcoma aviar, virus de tipo C, virus de tipo B, virus de tipo D de mamífero, grupo HTLV-BLV, lentivirus, spumavirus (Coffin, J. M., *Retroviridae: The viruses and their replication*, In *Fundamental Virology*, tercera edición, B. N. Fields, *et al.*, eds., Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, 1996).

– Por “vector lentiviral” quiere decirse vectores lentivirales basados en VIH que son muy prometedores para la inserción de genes debido a su capacidad de empaquetamiento relativamente grande, inmunogenicidad reducida y su capacidad para transducir de manera estable con alta eficacia una amplia gama de diferentes tipos de células. Los vectores lentivirales se generan generalmente después de la transfección transitoria de tres (empaquetamiento, envuelta y transferencia) o más plásmidos en las células productoras. Al igual que el VIH, los vectores lentivirales entran en la célula diana a través de la interacción de las glicoproteínas de la superficie virales con los receptores en la superficie celular. En la entrada, el ARN viral se somete a transcripción inversa, que está mediada por el complejo de transcriptasa inversa viral. El producto de la transcripción inversa es un ADN viral lineal bicatenario, que es el sustrato para la integración viral en el ADN de las células infectadas. Por “vectores lentivirales integradores (o LV)” quiere decirse tales vectores como ejemplo no limitativo, que pueden integrarse en el genoma de una célula diana. Por el contrario, por “vectores lentivirales no integradores (o NILV)” quiere decirse vectores de inserción de genes eficaces que no se integran en el genoma de una célula diana a través de la acción de la integrasa del virus.

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

– Por célula o células quiere decirse cualquier célula viva eucariota, célula primaria y línea celular derivada de estos organismos para cultivos *in vitro*.

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

Como ejemplos no limitativos, las líneas celulares pueden seleccionarse del grupo que consiste en células CHO-K1; células HEK293; células Caco2; células U2-OS; células NIH 3T3; células NSO; células SP2; células CHO-S; células DG44; células K-562; células U-937; células MRC5; células IMR90; células Jurkat; células HepG2; células HeLa;

células HT-1080; células HCT-116; células Hu-h7; células Huvec; células Molt 4.

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

– por “mutación” quiere decirse la sustitución, delección, inserción de hasta uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, veinte, veinticinco, treinta, cuarenta, cincuenta o más nucleótidos/aminoácidos en un polinucleótido (ADNc, gen) o una secuencia polipeptídica. La mutación puede afectar a la secuencia de codificación de un gen o su secuencia reguladora. También puede afectar a la estructura de la secuencia genómica o la estructura/estabilidad del ARNm codificado.

– por “variante(s)”, quiere decirse una variante de repetición, una variante, una variante de unión a ADN, una variante de nucleasa TALE, una variante de polipéptido obtenida por mutación o reemplazo de al menos un residuo en la secuencia de aminoácidos de la molécula progenitora.

– por “variante funcional” quiere decirse un mutante catalíticamente activo de una proteína o un dominio de proteína; tal mutante puede tener la misma actividad en comparación con su proteína progenitora o dominio de proteína o propiedades adicionales, o actividad más alta o más baja.

– “identidad” se refiere a la identidad de secuencia entre dos moléculas de ácido nucleico o polipéptidos. La identidad puede determinarse comparando una posición en cada secuencia que puede alinearse con fines de comparación. Cuando una posición en la secuencia comparada está ocupada por la misma base, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. Un grado de similitud o identidad entre las secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos es una función del número de nucleótidos idénticos o coincidentes en las posiciones compartidas por las secuencias de ácido nucleico. Pueden usarse diversos algoritmos y/o programas de alineación para calcular la identidad entre dos secuencias, incluyendo FASTA o BLAST, que están disponibles como parte del paquete de análisis de secuencias GCG (Universidad de Wisconsin, Madison, Wisconsin), y pueden usarse con, por ejemplo, la configuración predeterminada. Por ejemplo, se contemplan polipéptidos que tienen una identidad de al menos el 70%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99% con polipéptidos específicos descritos en el presente documento y que presentan preferiblemente de manera sustancial las mismas funciones, así como polinucleótido que codifica para dichos polipéptidos. A menos que se indique lo contrario, una puntuación de similitud se basará en el uso de BLOSUM62. Cuando se usa BLASTP, el porcentaje de similitud se basa en la puntuación positiva de BLASTP y el porcentaje de identidad de secuencia se basa en la puntuación de identidad de BLASTP. Las “identidades” de BLASTP muestra el número y la fracción de residuos totales en los pares de secuencia de alta puntuación que son idénticos; y los “positivos” de BLASTP muestra el número y la fracción de residuos para los que las puntuaciones de alineación tienen valores positivos y que son similares entre sí. Las secuencias de aminoácidos que tienen estos grados de identidad o similitud o cualquier grado intermedio de identidad de similitud con las secuencias de aminoácidos dadas a conocer en el presente documento se contemplan y abarcan por esta divulgación. Las secuencias de polinucleótidos de polipéptidos similares se deducen usando el código genético y pueden obtenerse por medios convencionales, en particular mediante traducción inversa de su secuencia de aminoácidos usando el código genético.

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

Una “molécula coestimuladora” se refiere a la pareja de unión relacionada en una célula T que se une específicamente con un ligando coestimulador, mediando así la célula una respuesta coestimuladora, tal como, pero sin limitarse a, proliferación. Las moléculas coestimuladoras incluyen, pero no se limitan a, una molécula de CMH de clase I, BTLA y receptor del ligando Toll.

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

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

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

La descripción escrita anterior de la invención proporciona una manera y un procedimiento de elaborarla y usarla de manera que cualquier persona experta en esta técnica pueda elaborarla y usarla, proporcionándose esta habilitación en particular para el contenido de las reivindicaciones adjuntas, que constituyen una parte de la descripción original.

Cuando se establece un límite o intervalo numérico en el presente documento, se incluyen los extremos. Además, todos los valores y subintervalos dentro de un límite o intervalo numérico se incluyen específicamente como si estuvieran explícitamente escritos.

La descripción anterior se presenta para permitir a una persona experta en la técnica elaborar y usar la invención, y se proporciona en el contexto de una aplicación particular y sus requisitos. Diversas modificaciones a las realizaciones preferidas serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica, y los principios genéricos definidos en el presente documento pueden aplicarse a otras realizaciones. En el sentido más amplio, el alcance de la invención es tal como se define en las reivindicaciones.

Habiendo descrito en general esta invención, puede obtenerse una comprensión adicional por referencia a determinados ejemplos específicos, que se proporcionan en el presente documento sólo con fines ilustrativos.

Ejemplos

Materiales y métodos

Células primarias

Se aislaron células mononucleares de sangre periférica por centrifugación por gradiente de densidad a partir de capas leucocitarias de donantes voluntarios sanos (Etablissement Français du Sang). Luego se purificaron linfocitos T usando el kit de enriquecimiento de células T humanas EasySep (Stemcell Technologies), y se activaron con Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 (Life Technologies) en medio X-vivo 15 (Lonza) complementado con IL-2 20 ng/ml (Miltenyi) y suero AB humano al 5% (Seralab).

Líneas celulares

Se obtuvieron las líneas celulares HCT116, MCF-7, SK-MEL-28 y Daudi de la Colección Americana de Cultivos Tipo. Las células HCT116 se cultivaron en McCoy complementado con FCS inactivado por calor al 10%, L-glutamina 2 mmol/l y penicilina 100 unidades/ml, y estreptomycin 100 µg/ml. Las células MCF-7 se cultivaron en DMEM complementado con FCS inactivado por calor al 10%, L-glutamina 2 mmol/l y penicilina 100 unidades/ml, y estreptomycin 100 µg/ml e insulina humana 0,01 mg/ml. Las células SK-MEL-28 se cultivaron en MEM complementado con FCS inactivado por calor al 10%, L-glutamina 2 mmol/l y penicilina 100 unidades/ml, y estreptomycin 100 µg/ml. Las células Daudi se cultivaron en RPMI 1640 complementado con FCS inactivado por calor al 10%, L-glutamina 2 mmol/l y penicilina 100 unidades/ml, y estreptomycin 100 µg/ml.

Síntesis y clonación de secuencias que codifican para scCAR

Las secuencias de ADN que codifican para los scCAR se sintetizaron mediante GenScript y se clonaron en un plásmido que contenía el promotor T7 para la síntesis *in vitro* de ARNm de CAR.

Síntesis in vitro de ARNm de CAR

Se sintetizó ARNm que codifica para los scCAR usando como moldes plásmidos linealizados en los que la secuencia que codifica para los CAR está bajo el control del promotor T7. La transcripción y poliadenilación *in vitro* se realizaron usando el kit mMessage mMachine T7 Ultra (Life Technologies) según las instrucciones del fabricante. Los ARN se purificaron con columnas RNeasy (Qiagen), se eluyeron en medio de citoporcación T (Harvard Apparatus) y se cuantificaron midiendo la absorbancia a 260 nm usando un espectrofotómetro Nanodrop ND-1000. La calidad del ARN se verificó en un gel de agarosa de formaldehído/MOPS desnaturalizante.

Electroporación de ARN de células T

Después de un periodo de 11-12 días de activación, los linfocitos T se transfectaron mediante electrotransferencia de ARN mensajero usando un sistema AgilePulse MAX (Harvard Apparatus). Tras la eliminación de las perlas de

activación, se sedimentaron las células, volvieron a suspenderse en medio de citoporcación T a 25×10^6 células/ml. Se mezclaron 5×10^6 células con 15 µg del ARNm que codifica para el scCAR en una cubeta de 0,4 cm. La electroporación consistió en dos pulsos de 0,1 ms a 1200 V seguido por cuatro pulsos de 0,2 ms a 130 V. Tras la electroporación, las células se diluyeron en medio de cultivo y se incubaron a 37°C/el 5% de CO₂.

5 Ensayo de desgranulación

Se cultivó conjuntamente un lote de 5×10^4 células T con 5×10^4 células positivas para 5T4 (MCF7 o HCT116) o negativas para 5T4 (Daudi) en 0,1 ml por pocillo en una placa de 96 pocillos. Se añadió anticuerpo anti-CD107a marcado con APC (BD Biosciences) al comienzo del cultivo conjunto además de 1 µg/ml de anticuerpo anti-CD49d (BD Biosciences), 1 µg/ml de anticuerpo anti-CD28 (Miltenyi) y 1x disolución de monensina (eBioscience). Después de una incubación de 6 h, las células se tiñeron con un colorante de viabilidad fijable (eBioscience) y anticuerpo anti-CD8 marcado con VioBlue (Miltenyi) y se analizaron usando el citómetro de flujo MACSQuant (Miltenyi). Las células T citotóxicas desgranulantes corresponden a células CD8+CD107a+.

Ensayo de citotoxicidad

Se marcaron células positivas y negativas para 5T4, respectivamente, con CellTrace CFSE y CellTrace Violet. Se cultivó conjuntamente un lote de 2×10^4 células positivas para 5T4 (MCF7 o HCT116) con 2×10^4 células negativas para 5T4 (SKMEL28) con 4×10^5 células T en 0.1 ml por pocillo en una placa de 96 pocillos. Después de una incubación de 4 horas, las células se recogieron y se tiñeron con un colorante de viabilidad fijable (eBioscience) y se analizaron usando el citómetro de flujo MACSQuant (Miltenyi).

El porcentaje de lisis específica se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de lisis celular} = 100\% - \frac{\frac{\% \text{ de células diana viables tras el cultivo conjunto con células T modificadas con CAR}}{\% \text{ de células de control viables tras el cultivo conjunto con células T modificadas con CAR}}}{\frac{\% \text{ de células diana viables tras el cultivo conjunto con células T no modificadas}}{\% \text{ de células de control viables tras el cultivo conjunto con células T no modificadas}}}$$

Ejemplo 1: proliferación de células inactivadas con TCRalfa que expresan un CAR de 5T4.

Se diseñó y produjo nucleasa TALE heterodimérica dirigida a dos secuencias de 17 pb de longitud (denominadas medias dianas) separadas por un espaciador de 15 pb dentro del gen de la región constante de cadena alfa del receptor de células T (TRAC). Cada media diana se reconoce por repeticiones de las medias nucleasas TALE enumeradas en la tabla 10

Tabla 10: nucleasas TAL que seleccionan como diana el gen TCRalfa

Diana	Secuencia diana	Polinucleótido codificar TALEN	Media nucleasa TALE
TRAC_T01	TTGTCCACAGATATCC Agaacctgacctg CCGTGTACCAGCTGAGA (SEQ ID NO: 43)	T01-L (SEQ ID NO: 44)	TALEN TRAC_T01-L (SEQ ID NO: 46)
		T01-R (SEQ ID NO: 45)	TALEN TRAC_T01-R (SEQ ID NO: 47)

Cada constructo de nucleasa TALE se subclonó usando digestión con enzimas de restricción en un vector de expresión de mamífero bajo el control del promotor T7. El ARNm que codifica para la secuencia genómica TRAC de escisión de nucleasa TALE se sintetizó a partir del plásmido que portaba la secuencia codificante en el sentido 3' del promotor T7.

Las células T purificadas activadas previamente durante 72 horas con perlas recubiertas con anticuerpo anti-CD3/CD28 se transfectaron con cada uno de los 2 ARNm que codifican para las dos medias nucleasas TALE TRAC_T01. 48 horas después de la transfección, diferentes grupos de células T del mismo donante se transdujeron, respectivamente, con un vector lentiviral que codifica para uno de los CAR de 5T4 descritos anteriormente (SEQ ID NO: 19 a 42). 2 días después de la transducción, se purificaron células CD3^{NEG} usando perlas magnéticas anti-CD3, y 5 días después de la transducción, las células se reactivaron con anticuerpo anti-CD28 soluble (5 µg/ml).

La proliferación celular se siguió durante hasta 30 días después de la reactivación contando las células 2 veces por semana. Se observó un aumento de la proliferación en células inactivadas por TCR alfa que expresan los CAR de 5T4, especialmente cuando se reactivaron con anticuerpo anti-CD28, en comparación con células no transducidas.

Para investigar si las células T humanas que expresan el CAR de 5T4 presentan estado activado, la expresión del marcador de activación CD25 se analiza mediante FACS 7 días después de la transducción. Las células purificadas transducidas con el vector lentiviral que codifica para CAR de 5T4 se sometieron a ensayo para determinar la expresión de CD25 en su superficie para evaluar su activación en comparación con las células no transducidas. Se

espera un aumento de la expresión de CD25 tanto en condiciones de reactivación de CD28 como de ausencia de reactivación.

Ejemplo 2: selección de línea celular positiva y negativa para 5T4

5 Se examinaron ocho líneas celulares humanas para determinar la expresión de 5T4 mediante inmunotransferencia de tipo Western y citometría de flujo (véase la tabla 11 a continuación).

Tabla 11: expresión de antígeno de 5T4 en 8 líneas celulares humanas

Línea celular	Descripción	Tipo de célula
MCF7	adherente	adenocarcinoma
HCT116	adherente	carcinoma colorrectal
MKN45	adherente	carcinoma gástrico
LS174T	adherente	adecarcinoma colorrectal
SK-MEL-28	adherente	melanoma maligno
SupT1	suspensión	linfoma linfoblástico de células T
Daudi	suspensión	linfoma de Burkitt

10 No se detectó 5T4 en extractos de células Daudi (ATCC CCL-213), SupT1 (ATT CRL-1942) y SK-MEL-28 (ATCC HTB-72), pero se detectó en extractos de células MCF7 (ATCC HTB-22), HCT116 (ATCC CCL-247), MKN45 (JCRB0254) y LS174T (ATCC CL-188). Entre las células que resultaron positivas para el antígeno de 5T4 después del análisis de inmunotransferencia de tipo Western, sólo se encontraron dos que expresaban 5T4 en la superficie celular: células MCF7 y HCT116, expresando MCF7 los niveles más altos de antígeno de 5T4 que las células HCT116.

Ejemplo 3: generación de scCAR anti-5T4

15 Se crearon CAR de cadena sencilla de segunda generación específicos de 5T4 (mostrados esquemáticamente en las figuras 3 a 6 y en la tabla 3 a la tabla 6) combinando las secuencias de 4 scFv diferentes con las secuencias de 3 espaciadores diferentes, 2 dominios transmembrana diferentes, 1 dominio coestimulador y 1 dominio estimulador tal como se representa en la figura 2.

Las secuencias usadas en los CAR (presentados en la tabla 1 y la tabla 2) se derivan de:

- los anticuerpos H8, A1, A2 o A3 para el scFv;
- 20 – las moléculas IgG1, FcεRIIIγ o CD8α para el dominio espaciador;
- las moléculas CD8α o 4-1BB para el dominio transmembrana;
- la molécula 4-1BB para el dominio coestimulador;
- la molécula CD3ζ para el dominio estimulador.

Ejemplo 4: prueba *in vitro* de scCAR anti-5T4

25 Para evaluar la actividad de los CAR de cadena sencilla específicos de 5T4, se activaron células T humanas de voluntarios sanos con perlas CD3/CD28 y, once días tras la activación, se sometieron a electroporación con ARNm que codifica para los CAR. La actividad y la especificidad de los CAR se analizaron 1-2 días después de la transfección midiendo la desgranulación de células T y la citotoxicidad de células T contra células diana positivas y negativas para 5T4.

30 Los resultados se presentan a continuación para la prueba en un caso (N=1), sin embargo, se realizaron experimentos en otros dos casos que mostraron resultados similares (no mostrados).

La figura 7 muestra que todos los CAR sometidos a prueba indujeron un nivel significativo ($\geq 20\%$) de desgranulación de células T tras el cultivo conjunto con MCF7, pero no tras el cultivo conjunto con células Daudi. Entre los ocho CAR sometidos a prueba, siete también pudieron mediar la desgranulación de células T tras el cultivo conjunto con células HCT116, una línea celular que expresa un nivel más bajo de 5T4 que MCF7.

35 La figura 8 muestra que todas las células T modificadas con los CAR v3 de A1, v5 de A1, v3 de A2, v5 de A2, v3 de A3, v2 de H8 y v3 de H8 lisaron significativa y específicamente las células MCF7. Las células T modificadas con los CAR v3 de A1, v5 de A1, v3 de A2, v5 de A2, v3 de A3 y v3 de H8 también pudieron lisar las células HCT116, una

línea celular que expresa un nivel más bajo de 5T4 que las células MCF7.

Ejemplos de secuencias polipeptídicas de CAR:

Las secuencias enmarcadas corresponden a las secuencias de VH y VL preferidas. VH y VL pueden intercambiarse para mejorar la eficacia del CAR.

5 v1 de H8

MALPVTALLPLALLLHAARP[EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVWKQSHGKSLEWIGRINPNN
[GVTLYNQKFKDKAILTVDKSSTTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTMITNYVMDYWGQVTSVTVSS]GGGGSGGGGS
GGGG[SIVMTQTPTFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPTLLISYTSSRYAGVPDRFIGSGYGTDF
FTISTLQAEDLAVYFCQQDYNPPTFGGGTKLEIKR]GLAVSTISSFFPPGYQIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGR
KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
R

v2 de H8

MALPVTALLPLALLLHAARP[EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVWKQSHGKSLEWIGRINPNN
[GVTLYNQKFKDKAILTVDKSSTTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTMITNYVMDYWGQVTSVTVSS]GGGGSGGGGS
GGGG[SIVMTQTPTFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPTLLISYTSSRYAGVPDRFIGSGYGTDF
FTISTLQAEDLAVYFCQQDYNPPTFGGGTKLEIKR]GLAVSTISSFFPPGYQIISFFLALTSTALLFLLFLTLRFVSVKRG
RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP
PR

v3 de H8

MALPVTALLPLALLLHAARP[EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVWKQSHGKSLEWIGRINPNN
[GVTLYNQKFKDKAILTVDKSSTTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTMITNYVMDYWGQVTSVTVSS]GGGGSGGGGS
GGGG[SIVMTQTPTFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPTLLISYTSSRYAGVPDRFIGSGYGTDF
FTISTLQAEDLAVYFCQQDYNPPTFGGGTKLEIKR]TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF
ACDIYIWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA
PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRG
KGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

v4 de H8

MALPVTALLPLALLLHAARP[EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVWKQSHGKSLEWIGRINPNN
[GVTLYNQKFKDKAILTVDKSSTTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTMITNYVMDYWGQVTSVTVSS]GGGGSGGGGS
GGGG[SIVMTQTPTFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPTLLISYTSSRYAGVPDRFIGSGYGTDF
FTISTLQAEDLAVYFCQQDYNPPTFGGGTKLEIKR]TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF
ACDIISFFLALTSTALLFLLFLTLRFVSVKRGKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD
APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRR
GKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v5 de H8

MALPVTALLPLALLHAARP[EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVWKQSHGKSLEWIGRINPNN
 GVTLYNQKFKDKAILTVDKSSTTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTMITNYVMDYWGQVTSVTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPTFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPTLLISYTSRYAGVPDRFIGSGYGTDF
 FTISTLQAEDLAVYFCQQDYNSPPTFGGGTKLEIKR]EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLT
 VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR
 PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGGKPR
 RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v6 de H8

MALPVTALLPLALLHAARP[EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVWKQSHGKSLEWIGRINPNN
 GVTLYNQKFKDKAILTVDKSSTTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSTMITNYVMDYWGQVTSVTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPTFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPTLLISYTSRYAGVPDRFIGSGYGTDF
 FTISTLQAEDLAVYFCQQDYNSPPTFGGGTKLEIKR]EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLT
 VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIISFFLALTSTALLFLLFLT LRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFM
 RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGGKPR
 RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v1 de A1

MALPVTALLPLALLHAARP[QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTNFGMNWVKQGPGEGLKWMGWINT
 NTGEPYAEFEKGRFAFSLETTASTAYLQINNKNEDTATYFCARDWDGAYFFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPKFLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNRYTGVPNRFSGSYGTD
 FTFTISTVQAEDLALYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK]GLAVSTISSFFPPGYQIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRG
 RKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
 RRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP
 PR

5

v2 de A1

MALPVTALLPLALLHAARP[QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTNFGMNWVKQGPGEGLKWMGWINT
 NTGEPYAEFEKGRFAFSLETTASTAYLQINNKNEDTATYFCARDWDGAYFFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPKFLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNRYTGVPNRFSGSYGTD
 FTFTISTVQAEDLALYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK]GLAVSTISSFFPPGYQIISFFLALTSTALLFLLFLT LRFSVVKR
 GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
 KRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL
 PPR

v3 de A1

MALPVTALLPLALLHAARP[QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTNFGMNWVKQGPGEGLKWMGWINT
 NTGEPYAEFEKGRFAFSLETTASTAYLQINNKNEDTATYFCARDWDGAYFFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPKFLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNRYTGVPNRFSGSYGTD
 FTFTISTVQAEDLALYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK]TTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD
 FACDIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD
 APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
 GKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10 v4 de A1

MALPVTALLPLALLLHAARP[QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNFGMNWVKQGPGEGLKWMGWINT]
 [NTGEPRYAEFEKGRFAFSLETTASTAYLQINNKNEDTATYFCARDWDGAYFFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNRYTGVPNRFTGSGYGT]
 [FTFTISTVQAEDLALYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK]TTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD
 FACDIISFFLALTSTALLFLLFLLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA
 DAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR
 RGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v5 de A1

MALPVTALLPLALLLHAARP[QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNFGMNWVKQGPGEGLKWMGWINT]
 [NTGEPRYAEFEKGRFAFSLETTASTAYLQINNKNEDTATYFCARDWDGAYFFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNRYTGVPNRFTGSGYGT]
 [FTFTISTVQAEDLALYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK]EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTP
 EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSKL
 TVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF
 RVPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK
 RRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v6 de A1

MALPVTALLPLALLLHAARP[QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNFGMNWVKQGPGEGLKWMGWINT]
 [NTGEPRYAEFEKGRFAFSLETTASTAYLQINNKNEDTATYFCARDWDGAYFFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGGS
 GGGGS[SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLINFATNRYTGVPNRFTGSGYGT]
 [FTFTISTVQAEDLALYFCQQDYSSPWTFGGGTKLEIK]EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTP
 EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSKL
 TVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIISFFLALTSTALLFLLFLLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPF
 MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG
 KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

5

v1 de A2

MALPVTALLPLALLLHAARP[QVQLQQRPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVISWVKQRTGQGLEWIGEIPGS]
 [NSIYYNEKFGRATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGSGGG
 GGS[QIVLTQSPAISASLGERVTLTCTASSSVNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL]
 [TISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTKLELK]GLAVSTISSFFPPGYQIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK
 LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR
 RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v2 de A2

MALPVTALLPLALLLHAARP[QVQLQQRPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVISWVKQRTGQGLEWIGEIPGS]
 [NSIYYNEKFGRATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYWGQGTTLTVSS]GGGSGGGSGGG
 GGS[QIVLTQSPAISASLGERVTLTCTASSSVNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL]
 [TISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTKLELK]GLAVSTISSFFPPGYQIISFFLALTSTALLFLLFLLTLRFSVVKRGRK
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR
 GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

v3 de A2

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSRPELVKPGASVKMSCKASGYFTDYVISWVKQRTGQGLEWIGEIPGS
 NSIYYNEKFGRATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYWGGQTTLVSSGGGGSGGGGSGG
 GGSQIVLTQSPAIMASASLGERVTLTCTASSSVNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL
 TISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTKLELKTTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC
 DIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK
 HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v4 de A2

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSRPELVKPGASVKMSCKASGYFTDYVISWVKQRTGQGLEWIGEIPGS
 NSIYYNEKFGRATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYWGGQTTLVSSGGGGSGGGGSGG
 GGSQIVLTQSPAIMASASLGERVTLTCTASSSVNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL
 TISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTKLELKTTTPAPRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC
 DIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP
 AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK
 GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

5 v5 de A2

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSRPELVKPGASVKMSCKASGYFTDYVISWVKQRTGQGLEWIGEIPGS
 NSIYYNEKFGRATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYWGGQTTLVSSGGGGSGGGGSGG
 GGSQIVLTQSPAIMASASLGERVTLTCTASSSVNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL
 TISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTKLELKEPKSPDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVT
 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV
 QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR
 NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v6 de A2

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQQSRPELVKPGASVKMSCKASGYFTDYVISWVKQRTGQGLEWIGEIPGS
 NSIYYNEKFGRATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAMGGNYGFDYWGGQTTLVSSGGGGSGGGGSGG
 GGSQIVLTQSPAIMASASLGERVTLTCTASSSVNSNYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL
 TISSMEAEDAATYYCHQYHRSPLTFGAGTKLELKEPKSPDKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVT
 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKT
 ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRP
 VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR
 RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

v1 de A3

MALPVTALLPLALLHAARPEVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSK
 SNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLLQMNNLKTEDTAMYYCVRQWDYDVRAMNYWGQGSTVTVSSGGG
 GSGGGGSGGGGSDIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDVTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRF
 TGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIKGLAVSTISSFFPPGYQIYWAPLAGTCGVLLSLV
 ITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
 EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL
 HMQALPPR

10

v2 de A3

MALPVTALLPLALLHAARP[EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK]
 [SNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLYQMNNLKTEDTAMYYCVRQWDYDVRAMNYWGQTSVTVSS]GGG
 GSGGGGSGGGGS[DIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDQDVTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRF]
 [TSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIK]GLAVSTISSFFPPGYQIISFFLALTSTALLFLLFFLT
 RFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR
 EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA
 LHMQUALPPR

v3 de A3

MALPVTALLPLALLHAARP[EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK]
 [SNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLYQMNNLKTEDTAMYYCVRQWDYDVRAMNYWGQTSVTVSS]GGG
 GSGGGGSGGGGS[DIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDQDVTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRF]
 [TSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIK]TTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGA
 VHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV
 KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

5 v4 de A3

MALPVTALLPLALLHAARP[EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK]
 [SNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLYQMNNLKTEDTAMYYCVRQWDYDVRAMNYWGQTSVTVSS]GGG
 GSGGGGSGGGGS[DIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDQDVTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRF]
 [TSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIK]TTTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGA
 VHTRGLDFACDIISFFLALTSTALLFLLFFLTFRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
 VKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

v5 de A3

MALPVTALLPLALLHAARP[EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK]
 [SNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLYQMNNLKTEDTAMYYCVRQWDYDVRAMNYWGQTSVTVSS]GGG
 GSGGGGSGGGGS[DIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDQDVTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRF]
 [TSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIK]EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKD
 TLMIAARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKS
 NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI
 FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD
 PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

v6 de A3

MALPVTALLPLALLHAARP[EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK]
 [SNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMYLYQMNNLKTEDTAMYYCVRQWDYDVRAMNYWGQTSVTVSS]GGG
 GSGGGGSGGGGS[DIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDQDVTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRF]
 [TSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKEIK]EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKD
 TLMIAARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVKS
 NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG
 SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKIISFFLALTSTALLFLLFFLTFRFSVVKRGRKKLL
 YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR
 DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

Bibliografía

- Arimondo, P. B., C. J. Thomas, *et al.* (2006). "Exploring the cellular activity of camptothecin-triple-helix-forming oligonucleotide conjugates." *Mol Cell Biol* 26(1): 324-33.
- 5 Atkins, J. F., N. M. Wills, *et al.* (2007). "A case for "StopGo": reprogramming translation to augment codon meaning of GGN by promoting unconventional termination (Stop) after addition of glycine and then allowing continued translation (Go)." *Rna* 13(6): 803-10.
- Bierer, B. E., G. Hollander, *et al.* (1993). "Cyclosporin A and FK506: molecular mechanisms of immunosuppression and probes for transplantation biology." *Curr Opin Immunol* 5(5): 763-73.
- 10 Boch, J., H. Scholze, *et al.* (2009). "Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors." *Science* 326(5959): 1509-12.
- Byrd, John. (2014). "Chronic Lymphocytic Leukemia". ASH Annual Meeting & Exposition
- Carsberg, C.J., Myers, K.A., Evans, G.S., Allen, T.D., Stern, P.L (1995) "Metastasis-associated 5T4 oncofoetal antigen is concentrated at microvillus projections of the plasma membrane" *J. Cell. Sci.* 108 (8):2905-16.
- 15 Castro, F. V., McGinn, O. J., Krishnan, S., Marinov, G., Rutkowski, A. J., Elkord, E., Burt, D. J., Holland, M., Vaghjiani, R., Gallego, A., Saha, V. and Stern, P. L. (2012). "5T4 oncofetal antigen is expressed in high risk of relapse childhood pre-B acute lymphoblastic leukemia and is associated with a more invasive and chemotactic phenotype." *Leukemia* 26(7):1487-98
- Chouluka, A., A. Perrin, *et al.* (1995). "Induction of homologous recombination in mammalian chromosomes by using the I-SceI system of *Saccharomyces cerevisiae*." *Mol Cell Biol* 15(4): 1968-73.
- 20 Christian, M., T. Cermak, *et al.* (2010). "Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nucleases." *Genetics* 186(2): 757-61.
- Cong, L., F. A. Ran, *et al.* (2013). "Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems." *Science* 339(6121): 819-23.
- 25 Cros, E. *et al.* (2004). "Problems related to resistance to cytarabine in acute myeloid leukemia". *Leukemia & Lymphoma*. 45(6):1123-1132.
- Deltcheva, E., K. Chylinski, *et al.* (2011). "CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III." *Nature* 471(7340): 602-7.
- Donnelly, M. and G. Elliott (2001). "Nuclear localization and shuttling of herpes simplex virus tegument protein VP13/14." *J Virol* 75(6): 2566-74.
- 30 Doronina, V. A., C. Wu, *et al.* (2008). "Site-specific release of nascent chains from ribosomes at a sense codon." *Mol Cell Biol* 28(13): 4227-39.
- Eisenschmidt, K., T. Lanio, *et al.* (2005). "Developing a programmed restriction endonuclease for highly specific DNA cleavage." *Nucleic Acids Res* 33(22): 7039-47.
- 35 Gardin, C. *et al.* (2007). "Postremission treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia in first complete remission after intensive induction chemotherapy: results of the multicenter randomized Acute Leukemia French Association (ALFA) 9803 trial". *Blood*. 109(12):5129-5135.
- Garneau, J. E., M. E. Dupuis, *et al.* (2010). "The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA." *Nature* 468(7320): 67-71.
- 40 Gasiunas, G., R. Barrangou, *et al.* (2012). "Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria." *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(39): E2579-86.
- Griffiths R. W. *et al.* (2005). " Expression of the 5T4 oncofoetal antigen in renal cell carcinoma: a potential target for T-cell-based immunotherapy." *Br J Cancer*. 93(6):670-7.
- Guest R. D. *et al.* (2005). "The role of extracellular spacer regions in the optimal design of chimeric immune receptors: evaluation of four different scFvs and antigens." *J Immunother*. 28(3):203-11.
- 45 Henderson, D. J., I. Naya, *et al.* (1991). "Comparison of the effects of FK-506, cyclosporin A and rapamycin on IL-2 production." *Immunology* 73(3): 316-21.
- Hole, N., and Stern, P.L., (1988). "A 72 kD trophoblast glycoprotein defined by a monoclonal antibody." *Br.J. Cancer* 54: 239-246.
- Jena, B., G. Dotti, *et al.* (2010). "Redirecting T-cell specificity by introducing a tumor-specific chimeric

antigen receptor." *Blood* 116(7): 1035-44.

Jinek, M., K. Chylinski, *et al.* (2012). "A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity." *Science* 337(6096): 816-21.

5 June, C. H. *et al.* (2011). "T Cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia". *Sci. Transl. Med.* 3(95):ra73.

Jiang, H. R. *et al.* (2006). "Combination of vaccination and chimeric receptor expressing T cells provides improved active therapy of tumors." *J Immunol.* 177(7):4288-98.

Kalish, J. M. and P. M. Glazer (2005). "Targeted genome modification via triple helix formation." *Ann N Y Acad Sci* 1058: 151-61.

10 Li, T., S. Huang, *et al.* (2011). "TAL nucleases (TALNs): hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain." *Nucleic Acids Res* 39(1): 359-72.

Liu, J., M. W. Albers, *et al.* (1992). "Inhibition of T cell signaling by immunophilin-ligand complexes correlates with loss of calcineurin phosphatase activity." *Biochemistry* 31(16): 3896-901.

Mali, P., L. Yang, *et al.* (2013). "RNA-guided human genome engineering via Cas9." *Science* 339(6121): 823-6.

15 Moscou, M. J. and A. J. Bogdanove (2009). "A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors." *Science* 326(5959): 1501.

Paques, F. and P. Duchateau (2007). "Meganucleases and DNA double-strand break-induced recombination: perspectives for gene therapy." *Curr Gene Ther* 7(1): 49-66.

20 Park, T. S., S. A. Rosenberg, *et al.* (2011). "Treating cancer with genetically engineered T cells." *Trends Biotechnol* 29(11): 550-7.

Peipp, M., D. Saul, *et al.* (2004). "Efficient eukaryotic expression of fluorescent scFv fusion proteins directed against CD antigens for FACS applications." *J Immunol Methods* 285(2): 265-80.

Perrin, A., M. Buckle, *et al.* (1993). "Asymmetrical recognition and activity of the I-SceI endonuclease on its site and on intron-exon junctions." *Embo J* 12(7): 2939-47.

25 Pingoud, A. and G. H. Silva (2007). "Precision genome surgery." *Nat Biotechnol* 25(7): 743-4.

Porteus, M. H. and D. Carroll (2005). "Gene targeting using zinc finger nucleases." *Nat Biotechnol* 23(8): 967-73.

Rouet, P., F. Smih, *et al.* (1994). "Introduction of double-strand breaks into the genome of mouse cells by expression of a rare-cutting endonuclease." *Mol Cell Biol* 14(12): 8096-106.

30 Sorek, R., C. M. Lawrence, *et al.* (2013). "CRISPR-mediated Adaptive Immune Systems in Bacteria and Archaea." *Annu Rev Biochem.*

Starzynska, T., Wiechowska-Kozłowska, A., Marlicz, K., *et al.* (1998). "5T4 oncofetal antigen in gastric carcinoma and its clinical significance". *Eur J Gastroenterol Hepatol* 10 (6): 479-84

35 Stoddard, B. L. (2005). "Homing endonuclease structure and function." *Q Rev Biophys* 38(1): 49-95. Wrigley, E. McGown A.T., Rennison J., Swindell R. Crowther, D. Starzynska T. and (1995). "Stern P.L. 5T4 oncofetal antigen expression in ovarian carcinoma". *International Journal of Gynecological Cancer.* 5 (4) :269-274.

Lista de secuencias

<110> CELLECTIS

<120> RECEPTORES DE ANTÍGENO QUIMÉRICO ESPECÍFICOS DE 5T4 (TPBG) PARA INMUNOTERAPIA CONTRA EL CÁNCER

40 <130> P81405474PCT00

<150> PA201470543

<151> 04-09-2014

<160> 71

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

5 <220>
 <223> péptido señal
 <400> 1

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

Gly Ser Thr Gly
 20

<210> 2

10 <211> 21
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> péptido señal

15 <400> 2

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

His Ala Ala Arg Pro
 20

<210> 3
 <211> 16
 <212> PRT

20 <213> *homo sapiens*
 <220>
 <223> región bisagra de FcγRIIIa
 <400> 3

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

25 <210> 4
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> *homo sapiens*
 <220>

30 <223> región bisagra de CD8α
 <400> 4

ES 2 777 305 T3

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

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

<210> 5

<211> 231

<212> PRT

5 <213> *homo sapiens*

<220>

<223> región bisagra de IgG1

<400> 5

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

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
65 70 75 80

ES 2 777 305 T3

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
85 90 95

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

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

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
130 135 140

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 6

<211> 24

<212> PRT

5 <213> *homo sapiens*

<220>

<223> dominio transmembrana de CD8 alfa

<400> 6

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

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

10 <210> 7

<211> 27

<212> PRT

<213> *homo sapiens*

<220>

15 <223> dominio transmembrana de 41BB

<400> 7

ES 2 777 305 T3

Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu
1 5 10 15

Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val
20 25

<210> 8

<211> 42

<212> PRT

5 <213> *homo sapiens*

<220>

<223> Fragmento de 4-1BB (residuos 214-255)

<400> 8

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

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

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

10 <210> 9

<211> 112

<212> PRT

<213> *homo sapiens*

<220>

15 <223> fragmento de la cadena de CD3 zeta de la glicoproteína de superficie de células T

<400> 9

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

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

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

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 10
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 5 <220>
 <223> secuencia de ligador
 <400> 10
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 11
 10 <211> 120
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> cadena pesada de H8
 15 <400> 11
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Val Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 12
 <211> 108
 20 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>

ES 2 777 305 T3

<223> región variable de la cadena ligera de H8

<400> 12

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

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

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

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

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

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

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

<210> 13

5 <211> 119

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena pesada de A3

10 <400> 13

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

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

ES 2 777 305 T3

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Arg Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

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

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Trp Asp Gly Ala Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena ligera de A3

<400> 14

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

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

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

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

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

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

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

10 <210> 15

<211> 117

<212> PRT

<213> secuencia artificial

ES 2 777 305 T3

<220>

<223> cadena pesada de A2

<400> 15

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

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

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

Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Asn Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Leu Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 16

<211> 108

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

10 <223> cadena ligera de A2

<400> 16

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

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

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

<210> 17

<211> 122

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena pesada de A3

<400> 17

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Met
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg Gln Trp Asp Tyr Asp Val Arg Ala Met Asn Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

10 <210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

15 <223> cadena ligera de A3

<400> 18

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 19

<211> 458

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v1 de H8

<400> 19

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

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

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

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

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
340 345 350

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
355 360 365

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
370 375 380

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
385 390 395 400

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

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
420 425 430

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
435 440 445

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455

<210> 20

<211> 461

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v2 de H8

<400> 20

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

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

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

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

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
340 345 350

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
355 360 365

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
370 375 380

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

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
405 410 415

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
420 425 430

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
435 440 445

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455 460

<210> 21

<211> 487

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v3 de H8

<400> 21

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

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

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

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

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 22

<211> 490

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v4 de H8

<400> 22

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

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

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Tyr Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Tyr Gly
 210 215 220

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

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

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

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

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

ES 2 777 305 T3

Asp Phe Ala Cys Asp Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr
305 310 315 320

Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val
325 330 335

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

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

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

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
385 390 395 400

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

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

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

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
450 455 460

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

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 23

<211> 490

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v5 de H8

<400> 23

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

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

Asp Phe Ala Cys Asp Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr
305 310 315 320

Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val
325 330 335

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

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

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

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
385 390 395 400

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

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

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

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
450 455 460

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

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 24

<211> 676

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v6 de H8

<400> 24

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Val	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Asp	Tyr	Asn	Ser	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gly	
				245					250					255		
Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Glu	Pro	Lys	Ser	Pro	Asp	Lys	Thr	
			260					265					270			
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	
		275					280					285				
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Thr	
	290					295					300					
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
305					310					315					320	
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
				325					330						335	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	
			340					345					350			
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
		355					360					365				
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
	370					375					380					
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
385					390					395					400	
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
				405					410					415		
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
			420					425					430			
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
		435					440					445				
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
	450					455					460					
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
465					470					475					480	
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ile	
				485					490					495		

ES 2 777 305 T3

Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu
500 505 510

Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys
515 520 525

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
530 535 540

Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
545 550 555 560

Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
565 570 575

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
580 585 590

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
595 600 605

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
610 615 620

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
625 630 635 640

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
645 650 655

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
660 665 670

Leu Pro Pro Arg
675

<210> 25

<211> 455

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v1 de A1

<400> 25

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

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

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
355 360 365

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

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
385 390 395 400

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

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
420 425 430

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
435 440 445

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455

<210> 26

<211> 458

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v2 de A1

<400> 26

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Pro Pro Gly Tyr Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr
275 280 285

Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val
290 295 300

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

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
325 330 335

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
340 345 350

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
355 360 365

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
370 375 380

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
385 390 395 400

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

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
420 425 430

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
435 440 445

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455

<210> 27

<211> 484

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v3 de A1

<400> 27

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
450 455 460

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

Leu Pro Pro Arg

<210> 28

<211> 487

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v4 de A1

<400> 28

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 245 250 255
 Lys Leu Glu Ile Lys Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 260 265 270
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 275 280 285
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 290 295 300
 Cys Asp Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu
 305 310 315 320
 Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly
 325 330 335
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 340 345 350
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 355 360 365
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 370 375 380
 Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 385 390 395 400
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 405 410 415
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 420 425 430
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 435 440 445
 Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 450 455 460
 Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 465 470 475 480
 Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485

<210> 29

<211> 670

5 <212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

ES 2 777 305 T3

<223> secuencia de CAR del polipéptido v5 de A1

<400> 29

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

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

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

Thr Phe Thr Asn Phe Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Gly Pro Gly Glu
50 55 60

Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro Arg
65 70 75 80

Tyr Ala Glu Glu Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Thr
85 90 95

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

Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Trp Asp Gly Ala Tyr Phe Phe Asp
115 120 125

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

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

Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
165 170 175

Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

ES 2 777 305 T3

450 455 460

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ile Tyr Ile Trp
485 490 495

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
500 505 510

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
515 520 525

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

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

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
565 570 575

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

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

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
610 615 620

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

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

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
660 665 670

<210> 30

<211> 673

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v6 de A1

<400> 30

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

245					250					255					
Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Glu	Pro	Lys	Ser	Pro	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
			260					265					270		
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
		275					280					285			
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
	290					295					300				
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
305					310					315					320
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
				325					330					335	
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
			340					345					350		
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
		355					360					365			
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala
	370					375					380				
Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
385					390					395					400
Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
				405					410					415	
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
			420					425					430		
Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
		435					440					445			
Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
	450					455					460				
Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
465					470					475					480
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ile	Ile	Ser	Phe
				485					490					495	

ES 2 777 305 T3

Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu
500 505 510

Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
515 520 525

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
530 535 540

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
545 550 555 560

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
565 570 575

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
580 585 590

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
595 600 605

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
610 615 620

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
625 630 635 640

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
645 650 655

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
660 665 670

Arg

<210> 31

<211> 455

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v1 de A2

<400> 31

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

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Arg Pro Glu Leu

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

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

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
355 360 365

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

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
385 390 395 400

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

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
420 425 430

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
435 440 445

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455

<210> 32

<211> 458

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v2 de A2

<400> 32

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

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Arg Pro Glu Leu

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Pro Pro Gly Tyr Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr
275 280 285

Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val
290 295 300

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

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
325 330 335

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
340 345 350

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
355 360 365

Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
370 375 380

Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
385 390 395 400

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

Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
420 425 430

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
435 440 445

Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455

<210> 33

<211> 484

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v3 de A2

<400> 33

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

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Arg Pro Glu Leu

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
450 455 460

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

Leu Pro Pro Arg

<210> 34

<211> 487

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v4 de A2

<400> 34

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
290 295 300

Cys Asp Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu
305 310 315 320

Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 35

<211> 670

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v5 de A2

ES 2 777 305 T3

<400> 35

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

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

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

Thr Phe Thr Asp Tyr Val Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln
50 55 60

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

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

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

Ala Val Tyr Phe Cys Ala Met Gly Gly Asn Tyr Gly Phe Asp Tyr Trp
115 120 125

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser
145 150 155 160

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys
165 170 175

Thr Ala Ser Ser Ser Val Asn Ser Asn Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln
180 185 190

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

ES 2 777 305 T3

Ala 210	Ser	Gly	Val	Pro	Ala	Arg 215	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Ser
Tyr 225	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser 230	Ser	Met	Glu	Ala	Glu 235	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr 240
Tyr	Cys	His	Gln	Tyr 245	His	Arg	Ser	Pro	Leu 250	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly 255	Thr
Lys	Leu	Glu	Leu 260	Lys	Glu	Pro	Lys	Ser 265	Pro	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
Pro	Pro	Cys 275	Pro	Ala	Pro	Pro	Val 280	Ala	Gly	Pro	Ser	Val 285	Phe	Leu	Phe
Pro	Pro 290	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr 295	Leu	Met	Ile	Ala	Arg 300	Thr	Pro	Glu	Val
Thr 305	Cys	Val	Val	Val	Asp 310	Val	Ser	His	Glu	Asp 315	Pro	Glu	Val	Lys	Phe 320
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp 325	Gly	Val	Glu	Val	His 330	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys 335	Pro
Arg	Glu	Glu	Gln 340	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr 345	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
Val	Leu	His 355	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn 360	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys 365	Cys	Lys	Val
Ser	Asn 370	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala 375	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr 380	Ile	Ser	Lys	Ala
Lys 385	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu 390	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr 395	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg 400
Asp	Glu	Leu	Thr	Lys 405	Asn	Gln	Val	Ser	Leu 410	Thr	Cys	Leu	Val	Lys 415	Gly
Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp 420	Ile	Ala	Val	Glu 425	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly 430	Gln	Pro
Glu	Asn 435	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro 440	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
Phe	Phe 450	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu 455	Thr	Val	Asp	Lys	Ser 460	Arg	Trp	Gln	Gln

ES 2 777 305 T3

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ile Tyr Ile Trp
485 490 495

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
500 505 510

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
515 520 525

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

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

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
565 570 575

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

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

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
610 615 620

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

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

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
660 665 670

<210> 36

<211> 673

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v6 de A2

<400> 36

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
515 520 525

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
530 535 540

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
545 550 555 560

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
565 570 575

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
580 585 590

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
595 600 605

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
610 615 620

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
625 630 635 640

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
645 650 655

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
660 665 670

Arg

<210> 37

<211> 459

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v1 de A3

<400> 37

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

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
290 295 300

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
305 310 315 320

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
325 330 335

Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
340 345 350

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
355 360 365

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
370 375 380

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
385 390 395 400

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
405 410 415

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
420 425 430

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
435 440 445

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455

<210> 38

<211> 462

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v2 de A3

<400> 38

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

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg
290 295 300

Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
305 310 315 320

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
325 330 335

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
340 345 350

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
355 360 365

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
370 375 380

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
385 390 395 400

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
405 410 415

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
420 425 430

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
435 440 445

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
450 455 460

<210> 39

<211> 488

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v3 de A3

<400> 39

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

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
290 295 300

Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 40

<211> 491

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v4 de A3

<400> 40

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

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

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
290 295 300

Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser
305 310 315 320

Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val
325 330 335

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

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

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

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385 390 395 400

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

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

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

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460

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

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 41

<211> 674

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de CAR del polipéptido v5 de A3

<400> 41

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

Pro Arg

<210> 42

<211> 677

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

 $\langle 220 \rangle$

<223> secuencia de CAR del polipéptido v6 de A3

<400> 42

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

245										250					255				
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Glu	Pro	Lys	Ser	Pro	Asp	Lys				
			260					265					270						
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser				
		275					280					285							
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Arg				
	290					295					300								
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro				
305					310					315					320				
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala				
				325					330					335					
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val				
			340					345					350						
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr				
		355					360					365							
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr				
	370					375					380								
Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu				
385					390					395					400				
Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys				
				405					410					415					
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser				
			420					425					430						
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp				
		435					440					445							
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser				
	450					455					460								
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala				
465					470					475					480				
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
				485					490					495					

ES 2 777 305 T3

Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu
500 505 510

Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys
515 520 525

Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
530 535 540

Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
545 550 555 560

Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
565 570 575

Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
580 585 590

Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
595 600 605

Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
610 615 620

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
625 630 635 640

Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
645 650 655

Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
660 665 670

Ala Leu Pro Pro Arg
675

<210> 43

<211> 530

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> dominio de unión a TAL TRAC_T01-L

<400> 43

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

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
275 280 285

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
290 295 300

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
305 310 315 320

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

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

Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
355 360 365

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

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
385 390 395 400

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
405 410 415

Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala
420 425 430

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

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

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

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

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

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
515 520 525

Leu Glu
530

<210> 44

<211> 2814

5 <212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

<223> polinucleótido que codifica para TALEN TRAC_T01-L

<400> 44

atgggcgatc	ctaaaaagaa	acgtaaggtc	atcgattacc	catacgaatgt	tccagattac	60
gctatcgata	tcgcccgatct	acgcacgctc	ggctacagcc	agcagcaaca	ggagaagatc	120
aaaccgaagg	ttcggttcgac	agtggcgag	caccacgagg	caactggtcgg	ccacgggttt	180
acacacgcgc	acatcggttc	gttaagccaa	cacccggcag	cgtagggac	cgtcgctgtc	240
aagtatcagg	acatgatcgc	agcgttgcca	gaggcgacac	acgaagcgat	cgttggcgtc	300
ggcaaacagt	ggtccggcgc	acgcgctctg	gaggccttgc	tcacgggtggc	gggagagttg	360
agagggtccac	cggttacagtt	ggacacaggc	caacttctca	agattgcaaa	acgtggcggc	420
gtgaccgcag	tggaggcagt	gcatgcattg	cgcaatgcac	tgacgggtgc	cccgtcaac	480
ttgaccccc	agcagggtgt	ggccatcgcc	agcaatggcg	gtggcaagca	ggcgctggag	540
acgggtccagc	ggctgttgcc	ggtgctgtgc	caggccacg	gcttgacccc	ccagcagggtg	600
gtggccatcg	ccagcaataa	tggtggcaag	caggcgctgg	agacgggtcca	gcggctgttg	660
ccgggtgctgt	gccaggccca	cggcttgacc	ccccagcagg	tggtggccat	cgccagcaat	720
ggcgggtggca	agcaggcgct	ggagacggtc	cagcggctgt	tgccgggtgct	gtgccaggcc	780
cacggcttga	ccccggagca	ggtggtggcc	atcgccagcc	acgatggcgg	caagcaggcg	840
ctggagacgg	tcacgcggct	gttgccggtg	ctgtgccagg	cccacggctt	gacccggag	900
cagggtggtgg	ccatcgccag	ccacgatggc	ggcaagcagg	cgctggagac	ggtccagcgg	960
ctgttgccgg	tgtgttgcca	ggcccacggc	ttgaccccg	agcagggtgt	ggccatcgcc	1020
agccacgatg	gcggcaagca	ggcgctggag	acggtccagc	ggctgttgcc	ggtgctgtgc	1080
caggccacg	gcttgacccc	ggagcagggt	gtggccatcg	ccagcaatat	tggtggcaag	1140
caggcgctgg	agacgggtgca	ggcgctgttg	ccggtgctgt	gccaggccca	cggcttgacc	1200
ccggagcagg	tggtggccat	cgccagccac	gatggcggca	agcaggcgct	ggagacgggtc	1260
cagcggtgtgt	tgccgggtgct	gtgccaggcc	caaggcctga	ccccggagca	ggtggtggcc	1320
atcgccagca	atattggtgg	caagcaggcg	ctggagacgg	tgacggcgct	gttgccgggtg	1380
ctgtgccagg	cccacggcct	gaccccccag	cagggtgtgg	ccatcgccag	caataatggt	1440
ggcaagcagg	cgctggagac	ggtccagcgg	ctgttgccgg	tgtgtgcca	ggcccacggc	1500
ttgaccccg	agcagggtgt	ggccatcgcc	agcaatatgt	gtggcaagca	ggcgctggag	1560
acggtgcagg	cgctgttgcc	ggtgctgtgc	caggccacg	gcttgacccc	ccagcagggtg	1620
gtggccatcg	ccagcaatgg	cggtggcaag	caggcgctgg	agacgggtcca	gcggctgttg	1680
ccgggtgctgt	gccaggccca	cggcttgacc	ccggagcagg	tggtggccat	cgccagcaat	1740
attggtggca	agcaggcgct	ggagacggtg	caggcgctgt	tgccgggtgct	gtgccaggcc	1800
cacggcttga	ccccccagca	ggtggtggcc	atcgccagca	atggcggtgg	caagcaggcg	1860
ctggagacgg	tcacgcggct	gttgccggtg	ctgtgccagg	cccacggctt	gacccggag	1920
cagggtggtgg	ccatcgccag	ccacgatggc	ggcaagcagg	cgctggagac	ggtccagcgg	1980
ctgttgccgg	tgtgttgcca	ggcccacggc	ttgacccctc	agcagggtgt	ggccatcgcc	2040
agcaatggcg	gcggcaggcc	ggcgctggag	agcattgttg	cccagttatc	tcgcctgat	2100
ccggcggtgg	ccgcgttgac	caacgaccac	ctcgtgcct	tgccctgcct	cggcgggcgt	2160
cctgcgctgg	atgcagtgaa	aaaggattg	ggggatccta	tcagccgttc	ccagctggtg	2220
aagtcggagc	tggaggagaa	gaaatccgag	ttgaggcaca	agctgaagta	cgtgccccac	2280
gagtacatcg	agctgatcga	gatcgcccg	aacagcacc	aggaccgtat	cctggagatg	2340
aagggtgatgg	agttcttcat	gaagggttac	ggctacaggg	gcaagcacct	gggcggctcc	2400
aggaagcccg	acggcgccat	ctacaccgtg	ggctccccc	tcgactacgg	cgtgatcgtg	2460
gacaccaagg	cctactccgg	cggctacaac	ctgcccacg	gccaggccga	cgaaatgcag	2520
aggtacgtgg	aggagaacca	gaccaggaac	aagcacatca	accccaacga	gtggtggaag	2580
gtgtacccct	ccagcgtgac	cgagttcaag	ttcctgttcg	tgtccggcca	cttcaagggc	2640
aactacaagg	cccagctgac	caggctgaac	catatcacca	actgcaacgg	cgccgtgctg	2700
tcctgtggag	agctcctgat	cggcgccgag	atgatcaagg	ccggcaccc	gaccctggag	2760
gaggtgagga	ggaagttcaa	caacggcgag	atcaacttcg	cggccgactg	ataa	2814

5 <210> 45

<211> 2832

<212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

10 <223> polinucleótido que codifica para TALEN TRAC_T01-R

<400> 45

ES 2 777 305 T3

atgggcgatc	ctaaaaagaa	acgtaaggtc	atcgataagg	agaccgcccgc	tgccaagttc	60
gagagacagc	acatggacag	catcgatatc	gccgatctac	gcacgctcgg	ctacagccag	120
cagcaacagg	agaagatcaa	accgaagggt	cgttcgacag	tggcgcagca	ccacgaggca	180
ctggctcgcc	acgggtttac	acacgcgcac	atcgttgcgt	taagccaaca	cccggcagcg	240
ttagggaccg	tcgctgtcaa	gtatcaggac	atgatcgca	cgttgccaga	ggcgacacac	300
gaagcgatcg	ttggcgctcg	caaacagtgg	tccggcgcac	gcgctctgga	ggccttgctc	360
acggtggcgg	gagagttgag	aggtccaccg	ttacagttgg	acacaggcca	acttctcaag	420
attgcaaaac	gtggcggcgt	gaccgcagtg	gaggcagtg	atgcatggcg	caatgcactg	480
acgggtgccc	cgctcaactt	gaccccgagg	cagggtggtg	ccatcgccag	ccacgatggc	540
ggcaagcagg	cgctggagac	ggtccacggg	ctgttgccgg	tgctgtgcca	ggcccacggc	600
ttgaccccc	agcagggtgt	ggccatcgcc	agcaatggcg	gtggcaagca	ggcgctggag	660
acggtccagc	ggctgttgcc	ggtgctgtgc	caggccacag	gcttgacccc	ggagcagggtg	720
gtggccatcg	ccagccacga	tggcggcaag	caggcgctgg	agacggcca	gcggtggtt	780
ccggtgctgt	gccaggccca	cggcttgacc	cggagcagg	tggtggccat	cggcagcaat	840
attggtggca	agcaggcgct	ggagacgggtg	caggcgctgt	tgccgggtgct	gtgccaggcc	900
cacggcttga	ccccccagca	ggtggtggcc	atcgccagca	ataatggtgg	caagcaggcg	960
ctggagacgg	tccagcggct	gttgccgggtg	ctgtgccagg	cccacggctt	gaccccgagg	1020
cagggtggtg	ccatcgccag	ccacgatggc	ggcaagcagg	cgctggagac	ggtccagcgg	1080
ctggtgccc	gtgctgtcca	ggcccacggc	ttgaccccc	agcagggtgt	ggccatcgcc	1140
agcaatggcg	gtggcaagca	ggcgctggag	acggtccagc	ggctgttgcc	ggtgctgtgc	1200
caggccacag	gcttgacccc	ccagcagggtg	gtggccatcg	ccagcaataa	tggtggcaag	1260
caggcgctgg	agacgggtcca	gcggctgttg	ccggtgctgt	gccaggccca	cggcttgacc	1320
ccccagcagg	tggtggccat	cgccagcaat	aatggtggca	agcaggcgct	ggagacgggtc	1380
cagcggtgtg	tgccgggtgt	gtgccaggcc	cacggcttga	ccccccagca	ggtggtggcc	1440
atcgccagca	atggcggtgg	caagcaggcg	ctggagacgg	tccagcggtc	gttgccgggtg	1500
ctgtgccagg	cccacggctt	gaccccgagg	cagggtggtg	ccatcgccag	caatattggt	1560
ggcaagcagg	cgctggagac	ggtgacggcg	ctgttgccgg	tgctgtgcca	ggcccacggc	1620
ttgacccogg	agcagggtgt	ggccatcgcc	agccacgatg	gcggcaagca	ggcgctggag	1680
acggtccagc	ggctgttgcc	ggtgctgtgc	caggccacag	gcttgacccc	ggagcagggtg	1740
gtggccatcg	ccagcaatat	tggtggcaag	caggcgctgg	agacgggtgca	ggcgctgttg	1800
ccggtgctgt	gccaggccca	cggcttgacc	ccggagcagg	tggtggccat	cggcagccac	1860
gatggcgcca	agcaggcgct	ggagacggtc	cagcggtgtg	tgccgggtgct	gtgccaggcc	1920
cacggcttga	ccccccagca	ggtggtggcc	atcgccagca	ataatggtgg	caagcaggcg	1980
ctggagacgg	tccagcggct	gttgccgggtg	ctgtgccagg	cccacggctt	gacccctcag	2040
cagggtggtg	ccatcgccag	caatggcggc	ggcaggccgg	cgctggagag	cattgttgcc	2100
cagttatctc	gccctgatcc	ggcggttgcc	gcgttgacca	acgaccacct	cgtcgcttg	2160
gcctgcctcg	gcgggcgtcc	tgcgctggat	gcagtgaata	agggattggg	ggatcctatc	2220
agccgttccc	agctggtgaa	gtccgagctg	gaggagaaga	aatccgagtt	gaggcacaag	2280
ctgaagtacg	tgccccacga	gtacatcgag	ctgatcgaga	tcgcccggaa	cagcaccag	2340
gaccgtatcc	tgagatgaa	ggtgatggag	ttcttcatga	aggtgtacgg	ctacaggggc	2400
aagcacctgg	gcggctccag	gaagcccagc	ggcgccatct	acaccgtggg	ctcccccatc	2460
gactacggcg	tgatcgtgga	caccaaggcc	tactccggcg	gctacaacct	gccccatggc	2520
caggccgacg	aaatgcagag	gtacgtggag	gagaaccaga	ccaggaacaa	gcacatcaac	2580
cccaacgagt	ggtggaaggt	gtacccctcc	agcgtgaccg	agttcaagtt	cctgttcgtg	2640
tccggccact	tcaagggcaa	ctacaaggcc	cagctgacca	ggctgaacca	catcaccaac	2700
tgcaacggcg	ccgtgctgtc	cgtggaggag	ctcctgatcg	gcggcgagat	gatcaaggcc	2760
ggcaccctga	ccctggagga	ggtgaggagg	aagttcaaca	acggcgagat	caacttcggc	2820
gccgactgat	aa					2832

<210> 46

<211> 530

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> dominio de unión a TAL TRAC_T01-L

<400> 46

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

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

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

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

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

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
515 520 525

Leu Glu
530

<210> 47

<211> 530

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> dominio de unión a TAL TRAC_T01-R

<400> 47

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

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

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
35 40 45

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

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

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

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
100 105 110

ES 2 777 305 T3

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

ES 2 777 305 T3

355 360 365
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 370 375 380
 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 405 410 415
 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala
 420 425 430
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 435 440 445
 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 450 455 460
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
 465 470 475 480
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 485 490 495
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 500 505 510
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 515 520 525

Leu Glu
530

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR1 de la cadena de VH de H8

<400> 48

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr
1 5

10 <210> 49

<211> 8

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR2 de la cadena de VH de H8
 <400> 49
 Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Thr
 1 5
 <210> 50
 5 <211> 13
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR3 de la cadena de VH de H8
 10 <400> 50
 Ala Arg Ser Thr Met Ile Thr Asn Tyr Val Met Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 51
 <211> 6
 <212> PRT
 15 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR1 de la cadena de VL de H8
 <400> 51
 Gln Ser Val Ser Asn Asp
 1 5
 20 <210> 52
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 25 <223> CDR2 de la cadena de VL de H8
 <400> 52
 Tyr Thr Ser
 1
 <210> 53
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR3 de la cadena de VL de H8
 <400> 53

Gln Gln Asp Tyr Asn Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR1 de la cadena de VH de A1

<400> 54

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Gly
1 5

10 <210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

15 <223> CDR2 de la cadena de VH de A1

<400> 55

Ile Asn Thr Asn Thr Gly Glu Pro
1 5

<210> 56

<211> 12

20 <212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR3 de la cadena de VH de A1

<400> 56

Ala Arg Asp Trp Asp Gly Ala Tyr Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

25 <210> 57

<211> 6

<212> PRT

<213> secuencia artificial

30 <220>

<223> CDR1 de la cadena de VL de A1

<400> 57

Gln Ser Val Ser Asn Asp
1 5

<210> 58

<211> 3
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 5 <223> CDR2 de la cadena de VL de A1
 <400> 58
 Phe Ala Thr
 1
 <210> 59
 <211> 9
 10 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR3 de la cadena de VL de A1
 <400> 59
 Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Trp Thr
 15 1 5
 <210> 60
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 20 <220>
 <223> CDR1 de la cadena de VH de A2
 <400> 60
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Val
 1 5
 <210> 61
 25 <211> 8
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR2 de la cadena de VH de A2
 30 <400> 61
 Ile Tyr Pro Gly Ser Asn Ser Ile
 1 5
 <210> 62
 <211> 10
 <212> PRT
 35 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> CDR3 de la cadena de VH de A2
 <400> 62
 Ala Met Gly Gly Asn Tyr Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10
 5 <210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 10 <223> CDR1 de la cadena de VL de A2
 <400> 63
 Ser Ser Val Asn Ser Asn Tyr
 1 5
 <210> 64
 <211> 3
 15 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR2 de la cadena de VL de A2
 <400> 64
 Ser Thr Ser
 20 1
 <210> 65
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 25 <220>
 <223> CDR3 de la cadena de VL de A2
 <400> 65
 His Gln Tyr His Arg Ser Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 66
 30 <211> 8
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> CDR1 de la cadena de VH de A3
 35 <400> 66

Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala
1 5

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR2 de la cadena de VH de A3

<400> 67

Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr
1 5 10

10 <210> 68

<211> 13

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

15 <223> CDR3 de la cadena de VH de A3

<400> 68

Val Arg Gln Trp Asp Tyr Asp Val Arg Ala Met Asn Tyr
1 5 10

<210> 69

<211> 6

20 <212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR1 de la cadena de VL de A3

<400> 69

Gln Asp Val Asp Thr Ala
1 5

25 <210> 70

<211> 3

<212> PRT

<213> secuencia artificial

30 <220>

<223> CDR2 de la cadena de VL de A3

<400> 70

Trp Ala Ser
1

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

5 <223> CDR3 de la cadena de VL de A3

<400> 71

Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Tyr	Thr
1				5				

REIVINDICACIONES

1. Receptor de antígeno quimérico (CAR) específico de 5T4 que tiene la estructura polipeptídica V3 tal como se ilustra en la figura 2, comprendiendo dicha estructura un dominio de unión a ligando extracelular que comprende VH y VL de un anticuerpo anti-5T4 monoclonal, una región bisagra de CD8 α , un dominio transmembrana de CD8 α y un dominio citoplasmático que incluye un dominio de señalización CD3 zeta y un dominio coestimulador de 4-1BB.
2. CAR específico de 5T4 según la reivindicación 1, en el que dichos VH y VL tienen una identidad de al menos el 80%, preferiblemente el 90%, más preferiblemente del 95% e incluso más preferiblemente del 99% con una secuencia polipeptídica seleccionada de SEQ ID NO. 11 a 18.
3. CAR específico de 5T4 según la reivindicación 1 ó 2, en el que dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A1 de SEQ ID NO. 54 (CDR1), SEQ ID NO. 55 (CDR2) y SEQ ID NO. 56 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A1 de SEQ ID NO. 57 (CDR1), SEQ ID NO. 58 (CDR2) y SEQ ID NO. 59 (CDR3); o en el que dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A2 de SEQ ID NO. 60 (CDR1), SEQ ID NO. 61 (CDR2) y SEQ ID NO. 62 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A2 de SEQ ID NO. 63 (CDR1), SEQ ID NO. 64 (CDR2) y SEQ ID NO. 65 (CDR3); o en el que dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A3 de SEQ ID NO. 66 (CDR1), SEQ ID NO. 67 (CDR2) y SEQ ID NO. 68 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón A3 de SEQ ID NO. 69 (CDR1), SEQ ID NO. 70 (CDR2) y SEQ ID NO. 71 (CDR3); o en el que dicho dominio de unión a ligando extracelular comprende una cadena de VH que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón H8 de SEQ ID NO. 48 (CDR1), SEQ ID NO. 49 (CDR2) y SEQ ID NO. 50 (CDR3), y una cadena de VL que comprende las CDR del anticuerpo monoclonal de ratón H8 de SEQ ID NO. 51 (CDR1), SEQ ID NO. 52 (CDR2) y SEQ ID NO. 53 (CDR3).
4. CAR específico de 5T4 según la reivindicación 1 ó 2, en el que dichos VH y VL tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%, preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con SEQ ID NO: 13 (VH de A1) y SEQ ID NO: 14 (VL de A1); o en el que dichos VH y VL tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%, preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con SEQ ID NO: 15 (VH de A2) y SEQ ID NO: 16 (VL de A2); o en el que dichos VH y VL tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%, preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con SEQ ID NO: 17 (VH de A3) y SEQ ID NO: 18 (VL de A3); o en el que dichos VH y VL tienen una identidad de secuencia de al menos el 80%, preferiblemente de al menos el 90%, más preferiblemente de al menos el 95% e incluso más preferiblemente de al menos el 99%, respectivamente, con SEQ ID NO: 11 (VH de H8) y SEQ ID NO: 12 (VL de H8).
5. CAR específico de 5T4 según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha región bisagra de CD8 α tiene una identidad de al menos el 80% con SEQ ID NO: 4 y/o en el que dicho dominio transmembrana de CD8 α tiene una identidad de secuencia de al menos el 80% con SEQ ID NO: 6.
6. CAR específico de 5T4 según la reivindicación 1, que comprende una secuencia polipeptídica que tiene una identidad de al menos el 80% con SEQ ID NO. 21, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 33 y SEQ ID NO. 39.
7. CAR específico de 5T4 según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además un péptido señal.
8. Polinucleótido que codifica para un receptor de antígeno quimérico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
9. Célula inmunitaria modificada por ingeniería genética que expresa en la membrana de la superficie celular un receptor de antígeno quimérico específico de 5T4 según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
10. Célula inmunitaria modificada por ingeniería genética según la reivindicación 9, que se deriva de linfocitos T inflamatorios, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T reguladores o linfocitos T cooperadores; o que se deriva de una célula NK.
11. Célula inmunitaria modificada por ingeniería genética según la reivindicación 9 ó 10, en la que la expresión de TCR se suprime en dicha célula inmunitaria.
12. Célula modificada por ingeniería genética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en la que la expresión de al menos una proteína del CMH, preferiblemente β 2m o HLA, se suprime en dicha célula

inmunitaria.

13. Célula inmunitaria modificada por ingeniería genética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en la que dicha célula se muta para conferir resistencia a al menos un fármaco inmunosupresor o quimioterápico.

5 14. Célula inmunitaria modificada por ingeniería genética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, para su uso en terapia.

15. Célula inmunitaria modificada por ingeniería genética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, para su uso en terapia de un estado de cáncer hematológico, en la que el estado de cáncer hematológico es leucemia linfoblástica aguda infantil de células B precursoras.

10

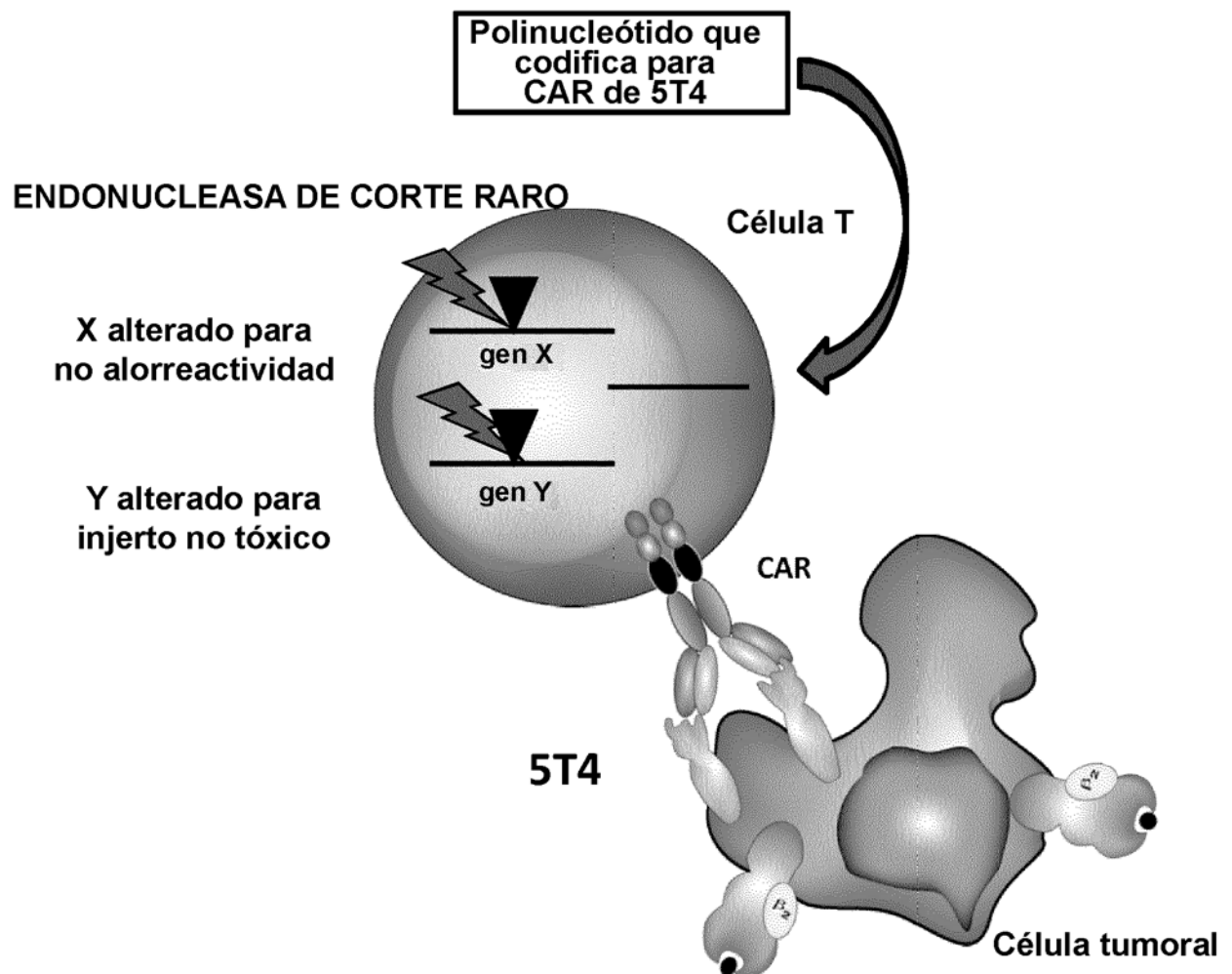


Figura 1

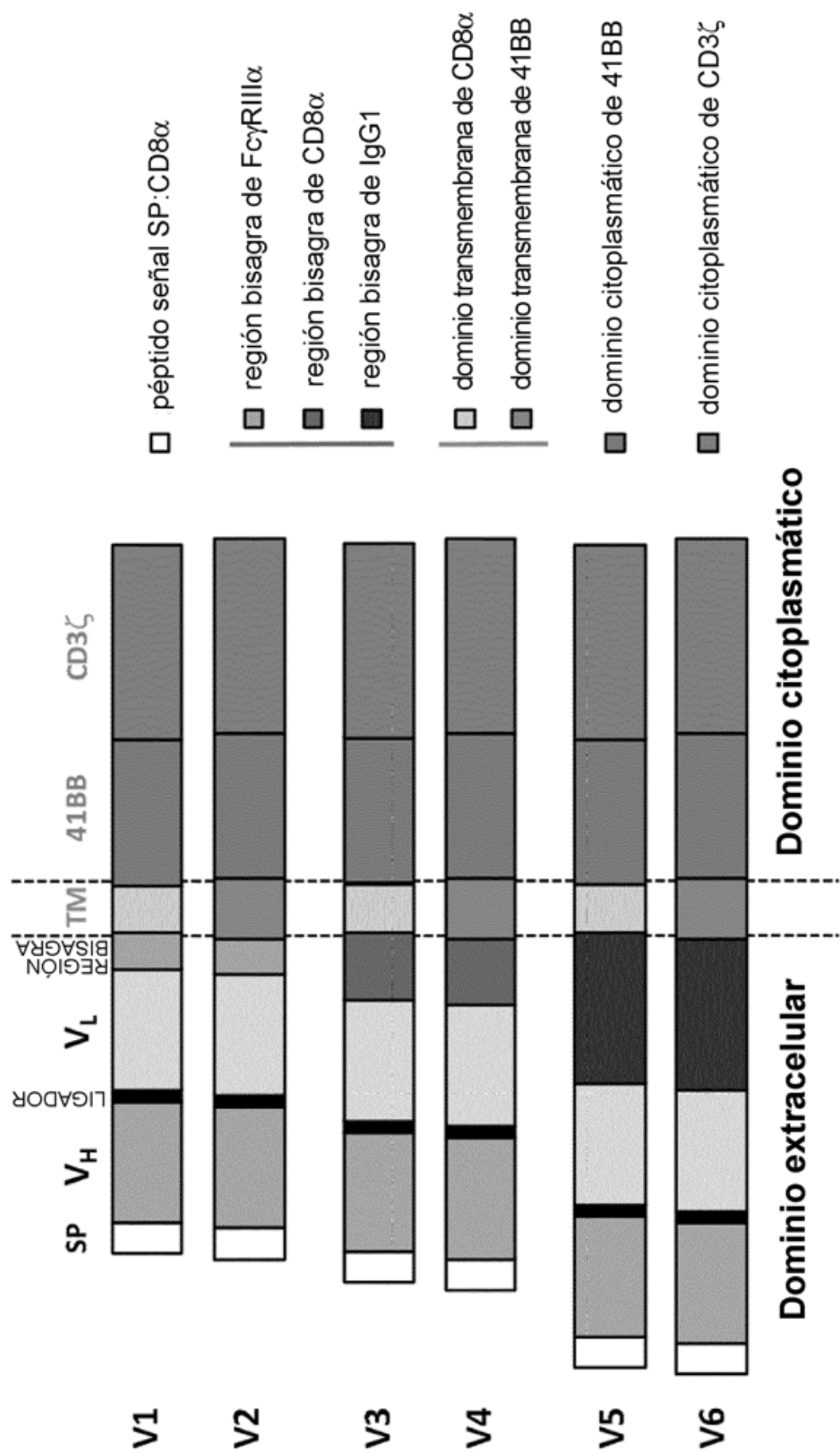


Figura 2

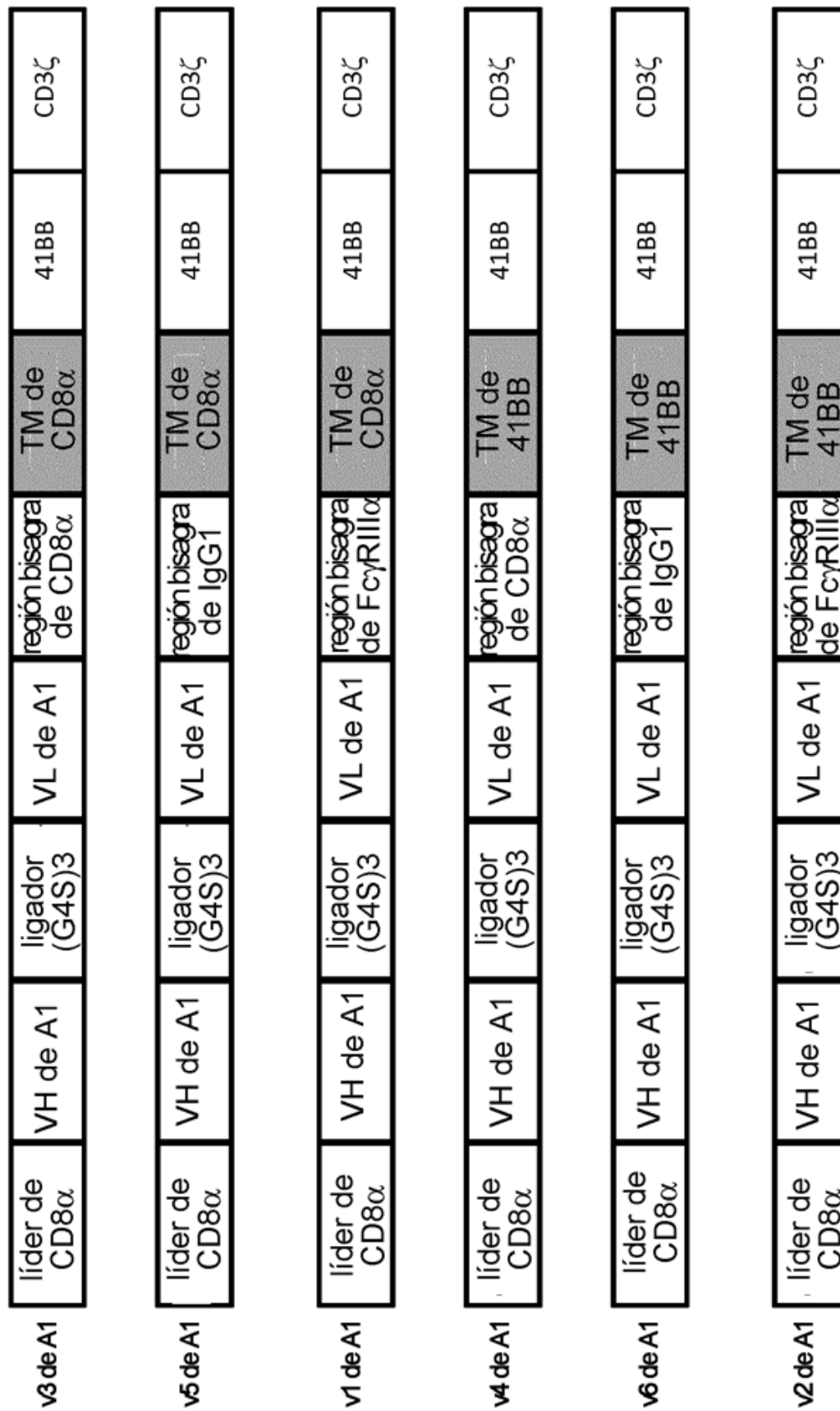


Figura 3

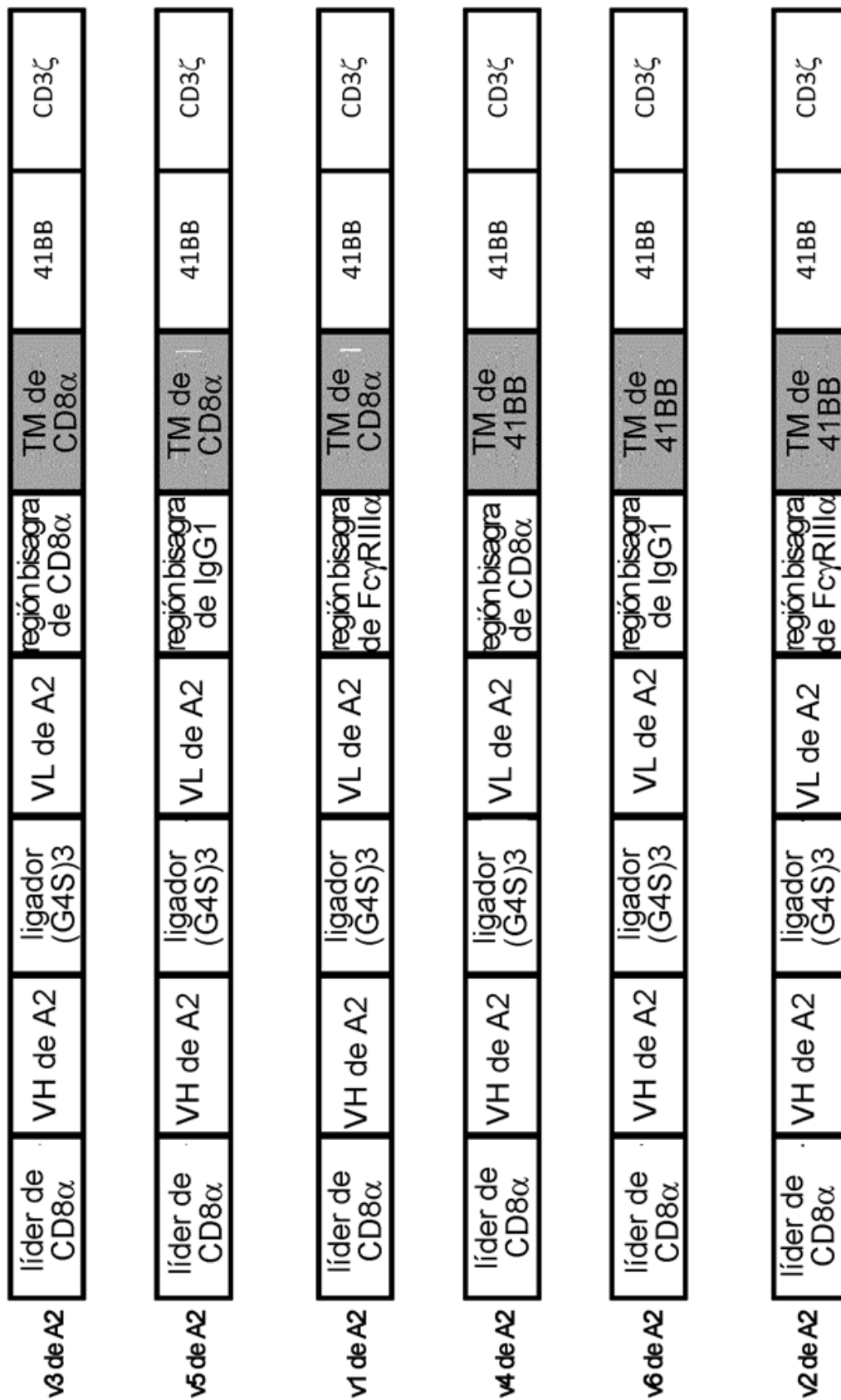


Figura 4

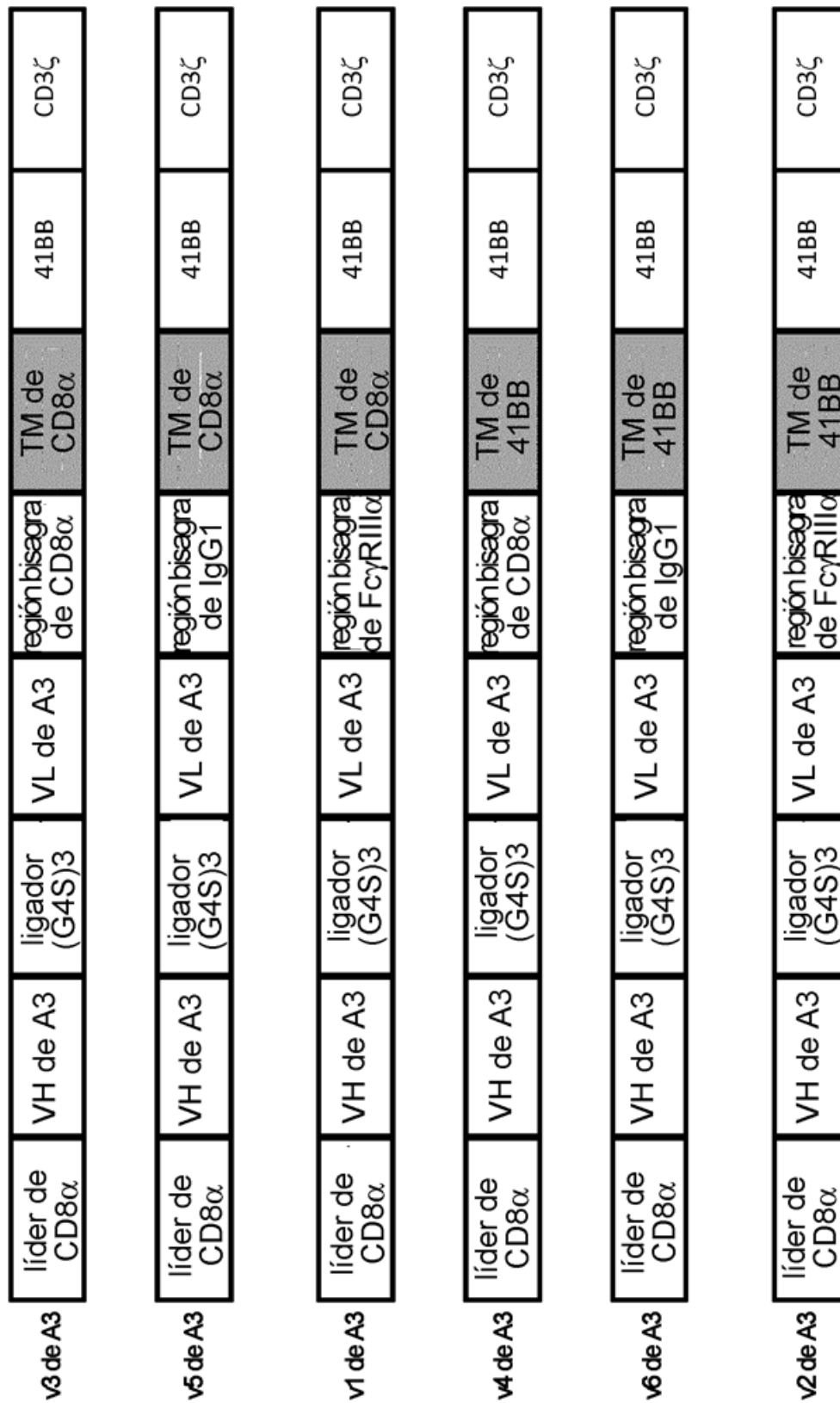


Figura 5

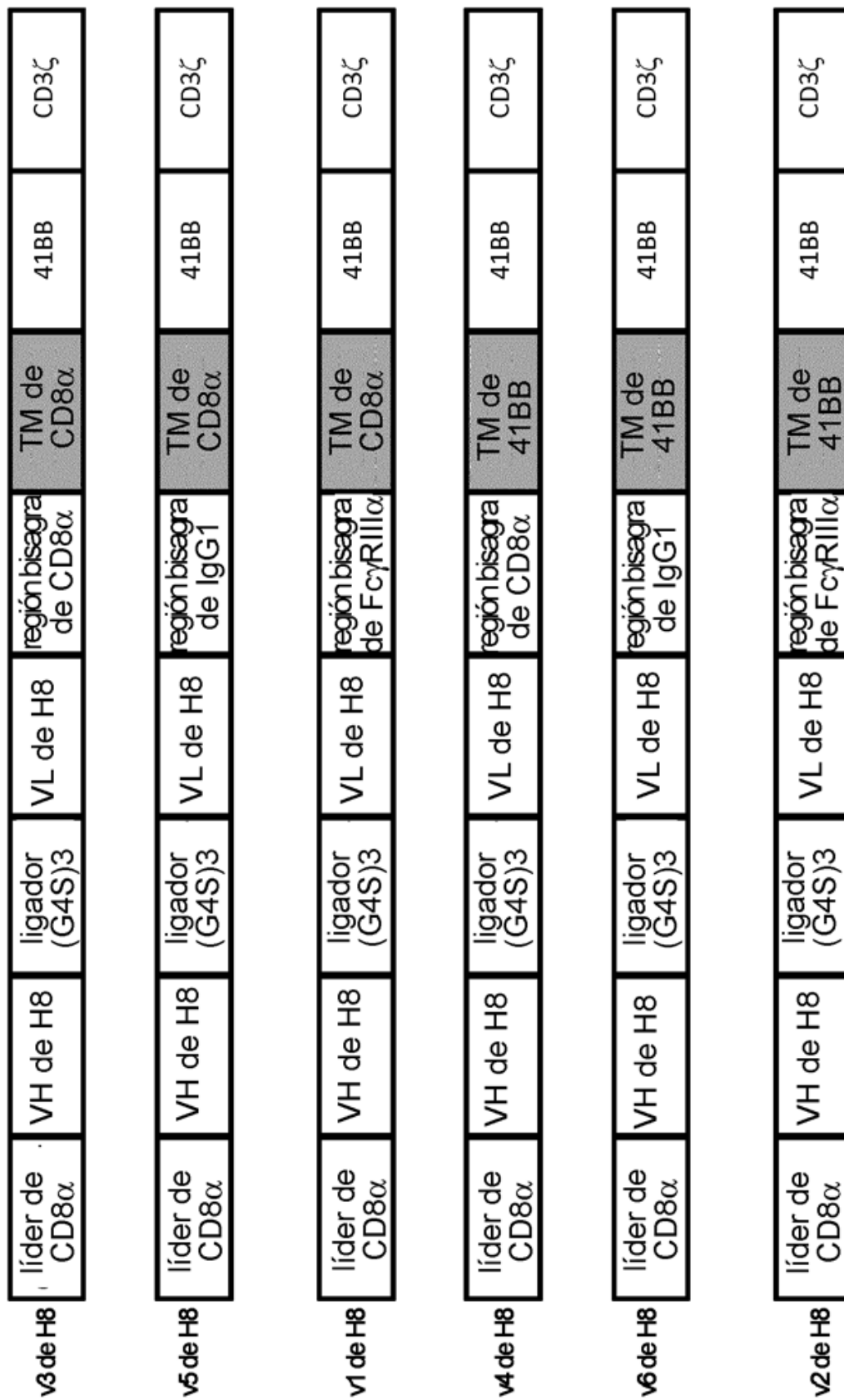


Figura 6

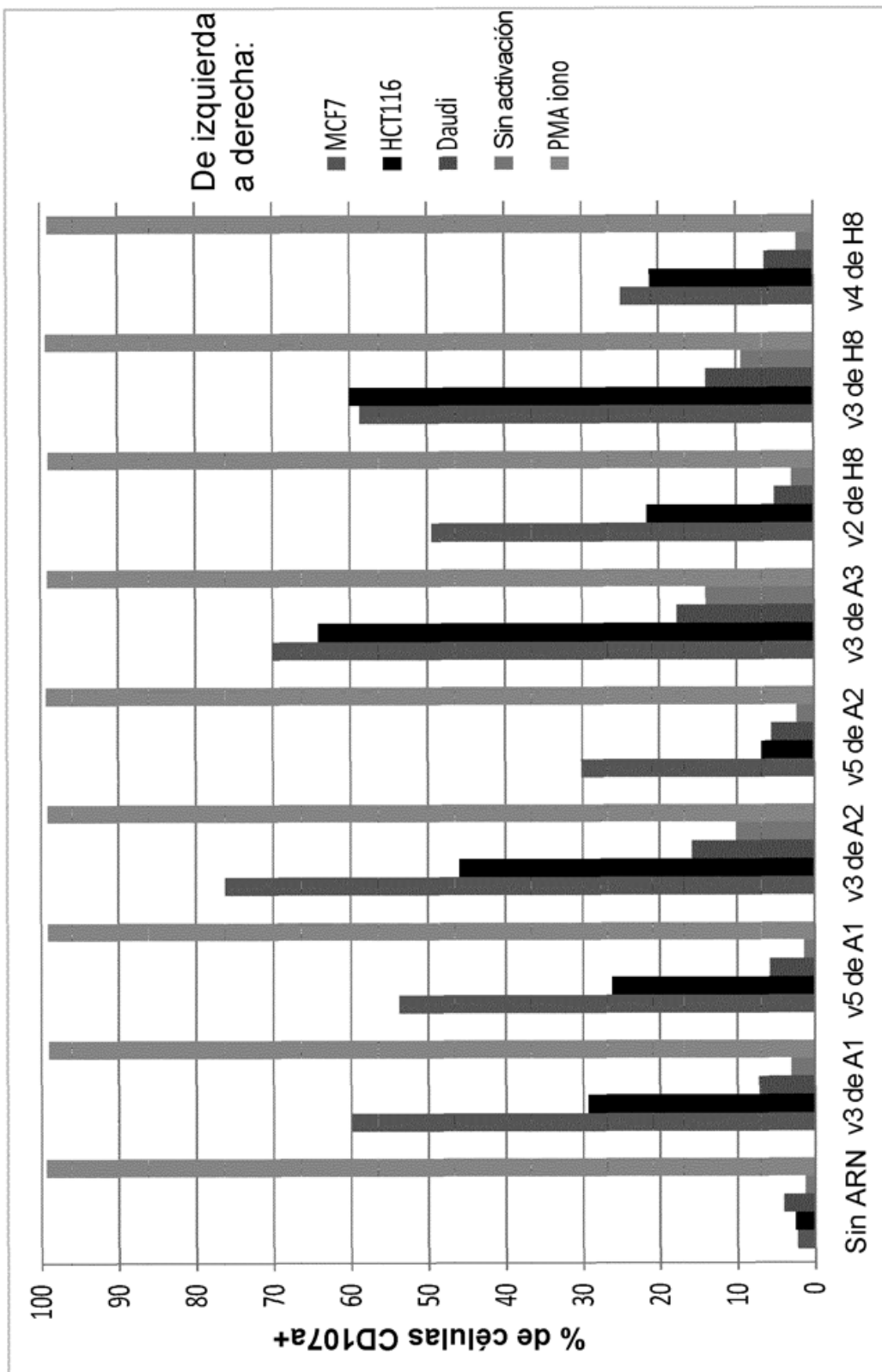


Figura 7

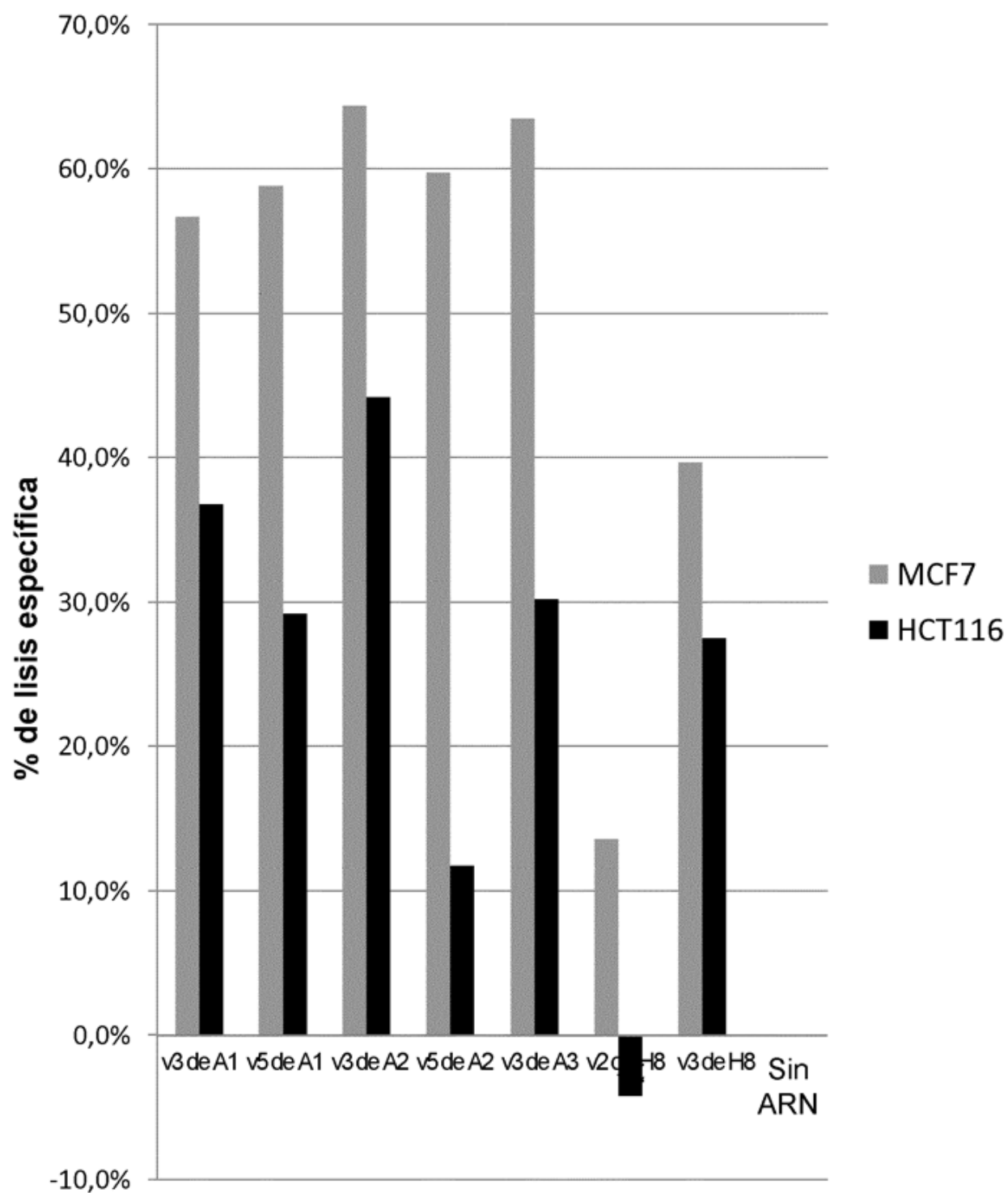


Figura 8