

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 814 962**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 14/725 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2014 PCT/US2014/017328**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2014 WO14130635**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2014 E 14711341 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 2958942**

54 Título: **Fijación eficaz como objetivo de la leucemia humana primaria utilizando células T modificadas con receptor de antígeno quimérico anti-CD123**

30 Prioridad:

20.02.2013 US 201361767058 P

14.08.2013 US 201361865856 P

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

29.03.2021

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (50.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, CH y

THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA (50.0%)

72 Inventor/es:

BROGDON, JENNIFER;

GILL, SAAR;

JUNE, CARL, H.;

KALOS, MICHAEL, D.;

LOEW, ANDREAS y

SCHOLLER, JOHN

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 814 962 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

Fijación eficaz como objetivo de la leucemia humana primaria utilizando células T modificadas con receptor de antígeno quimérico anti-CD123

Campo de la invención

La presente divulgación se refiere, en general, a células T modificadas para expresar un Receptor de Antígeno Quimérico (CAR) y su uso, p. ej., para tratar una enfermedad o afección asociada a la expresión de la cadena alfa del receptor de interleuquina 3 (IL-3R α , CD123).

Antecedentes de la invención

La mayoría de los pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) son incurables utilizando una terapia estándar (Mrozek et al, 2012, J Clin Oncol, 30:4515-23) y aquellos con AML recidivante o refractaria (RR-AML) tienen un pronóstico particularmente deficiente (Kern et al, 2003, Blood 2003, 101:64-70; Wheatley et al, 1999, Br J Haematol, 107:69-79).

La modificación genética puede conferir a los células T especificidad respecto a una diana de elección. Los células T se pueden transducir con material genético que codifica un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) de un anticuerpo, junto con una molécula de señalización, utilizando con ello la región determinante de complementariedad (CDR) con el fin de reconocer un antígeno de la superficie celular de una manera no restringida por MHC. Estas células se denominan células T con receptor de antígeno quimérico (CAR). Intentos preclínicos y clínicos de fijar como objetivo al menos a 20 moléculas de la superficie diferentes en una diversidad de neoplasias han demostrado cierta actividad, pero a menudo se vieron limitados por la escasa persistencia del producto de células CAR T infundido (Sadelain et al, 2009, Curr Opin Immunol 2009, 21:215-23). Un éxito reciente con células T redirigidas anti-CD 19 en pacientes con CLL y ALL avanzadas Porter et al, 2011, N Engl J Med, 365:725-33; Kalos et al, 2011, Science Transl Med, 3:95ra73; Grupp y Kalos, 2013, N Engl J Med, 368:1509-18) demostró que estas células pueden erradicar la carga tumoral masiva después de una sola infusión con una remisión que dura hasta 3 años hasta la fecha, lo que subraya el enorme potencial de la terapia con células CAR T. 3 Ha habido uno pocos intentos preclínicos para fijar como objetivo la AML en modelos animales (Marin et al, 2010, Haematologica, 95:2144-52; Tettamanti et al, 2013, Br J Haematol, 161:389-401) aunque un pequeño ensayo clínico publicado recientemente demostró que es factible producir e infundir células T a pacientes con una neoplasia agresiva (Ritchie et al, 2013, Mol Ther, epub antes de la impresión PMID 23831595). Thokala et al (2011, Blood, 118(21):1908), Mardiros et al (2012, Blood, 120(21):resumen 950), y Tettamanti ("Targeting of the acute myeloid leukemia stem cells through immunotherapy: Development of novel chimeric antigen receptors specific for the CD123 antigen" OMICS 2º Congreso Mundial de Biotecnología 29 de noviembre de 2011) son resúmenes de conferencias que se refieren a receptores de antígenos quiméricos dirigidos contra CD123.

Sumario de la invención

La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

La divulgación proporciona, entre otras cosas, composiciones que comprenden al menos un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD123 (denominado CAR123 o CAR CD123), vectores que comprenden el mismo y células T recombinantes que comprenden un CAR CD123. La divulgación también incluye métodos para hacer una célula T genéticamente modificada que exprese un CAR (CART), en donde el CAR expresado comprende un dominio de unión anti-CD 123.

La presente divulgación también se refiere, en general, al uso de células T modificadas para expresar un CAR para tratar una enfermedad asociada con la expresión de la cadena alfa del receptor de interleuquina 3 (IL-3R α , CD123). En un aspecto, la enfermedad es un cáncer asociado con la expresión de CD123. En un aspecto, el cáncer es un cáncer hematológico.

También se puede utilizar un CAR de la divulgación en un método mediante el cual se utiliza una célula CART123 modificada para erradicar células normales que expresan CD123.

Por consiguiente, en un aspecto, la divulgación se refiere a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR), en donde el CAR comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que incluye un dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado que se une específicamente a CD123), un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular (p. ej., un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio coestimulador y/o un dominio de señalización primario). En una realización de la divulgación, el CAR comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que incluye un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria (p. ej., un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que se

une específicamente a CD123 tal como se describe en esta memoria), un dominio de transmembrana descrito en esta memoria y un dominio de señalización intracelular descrito en esta memoria (p. ej., un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio coestimulador y/o un dominio de señalización primario).

5 En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 codificado comprende una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena ligera (LC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena ligera (LC CDR2) y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena ligera (LC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, y una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena pesada (HC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena pesada (HC CDR2), y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena pesada (HC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 humanizado que comprende una o más, p. ej., las tres LC CDRs y una o más, p. ej., las tres HC CDRs. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 codificado comprende una región variable de cadena ligera descrita en esta memoria (p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101) y/o una región variable de cadena pesada descrita en esta memoria (p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101). En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 codificado es un scFv que comprende una cadena ligera y una cadena pesada de una secuencia de aminoácidos de la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un scFv) comprende: una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena ligera proporcionada en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101; y/o una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de cadena pesada proporcionada en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 comprende una secuencia seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas.

30 En una realización de la divulgación, la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio de unión anti-CD123 comprende una secuencia seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 73 y SEQ ID NO: 79, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD 123 codificado es un scFv y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria, p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, está unida a una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria, p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, mediante un enlazador, p. ej., un enlazador descrito en esta memoria. En una realización, el dominio de unión anti-CD123 codificado incluye un enlazador (Gly₄-Ser)_n, en donde n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6, preferiblemente 4 (SEQ ID NO: 126). La región variable de cadena ligera y la región variable de la cadena pesada de un scFv pueden estar, por ejemplo, en cualquiera de las siguientes orientaciones: región variable de cadena ligera-enlazador-región variable de la cadena pesada o región variable de la cadena pesada-enlazador-región variable de la cadena ligera.

45 En una realización, el CAR codificado incluye un dominio transmembrana que comprende un dominio transmembrana de una proteína seleccionada del grupo que consiste en la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y CD154. En una realización, el dominio transmembrana codificado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 5. En una realización, el dominio transmembrana codificado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5. En una realización, la secuencia de ácidos nucleicos que codifica el dominio transmembrana comprende una secuencia de SEQ ID NO: 12 o una secuencia con un 95-99% de identidad con la misma.

55 En una realización, el dominio de unión anti-CD 123 codificado está conectado al dominio transmembrana mediante una región bisagra, p. ej., una región bisagra descrita en esta memoria. En una realización, la región de bisagra codificada comprende SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 104 o SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 124, o una secuencia con 95-99% de identidad de la misma. En una realización, la secuencia de ácido nucleico que codifica la región bisagra comprende una secuencia de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 105 o la SEQ ID NO: 123 o la SEQ ID NO: 125, o una secuencia con un 95-99% de identidad con la misma.

60 En una realización, la molécula de ácido nucleico aislada comprende, además, una secuencia que codifica un dominio coestimulador, p. ej., un dominio coestimulador descrito en esta memoria. En una realización, el dominio coestimulante codificado comprende un dominio de señalización funcional de una proteína seleccionada del grupo que consiste en OX40, CD2, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) y 4-1BB (CD137). En una realización, el dominio coestimulador codificado comprende una secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23. En

una realización, el dominio coestimulador codificado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 23, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 23. En una realización, la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio coestimulador comprende una secuencia de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 27, o una secuencia con 95-99% de identidad de la misma.

La molécula de ácido nucleico aislada comprende una secuencia que codifica un dominio de señalización intracelular, p. ej., un dominio de señalización intracelular descrito en esta memoria. En una realización, el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio de señalización funcional de 4-1BB y/o un dominio de señalización funcional de CD3 zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio de señalización funcional de CD27 y/o un dominio de señalización funcional de CD3 zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular codificado comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y/o la secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y/o una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y/o una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98. En una realización, el dominio de señalización intracelular codificado comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y la secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, en donde las secuencias que comprenden el dominio de señalización intracelular se expresan en el mismo marco y como una sola cadena polipeptídica. En una realización, la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 27, o una secuencia con 95-99% de identificación con la misma, y/o una secuencia de SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 99, o una secuencia con una identidad del 95-99% con la misma.

En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una construcción de CAR que comprende una secuencia conductora, p. ej., una secuencia conductora descrita en esta memoria, p. ej., de SEQ ID NO: 3; un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 que comprende un LC CDR1, un LC CDR2, un LC CDR3, un HC CDR1, un HC CDR2 y un HC CDR3 descritos en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 descrito en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2, o una secuencia con 95-99% de identidad con el mismo; una región de bisagra descrita en esta memoria, p. ej., de SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 104 o SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 124; un dominio transmembrana descrito en esta memoria, p. ej., que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 5; y un dominio de señalización intracelular, p. ej., un dominio de señalización intracelular descrito en esta memoria. En una realización, el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio coestimulador, p. ej., un dominio coestimulador descrito en esta memoria, p. ej., un dominio coestimulador 4-1BB que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 6, y/o un dominio de señalización primario, p. ej., un dominio de señalización primario descrito en esta memoria, p. ej., un dominio estimulante de CD3 zeta que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98. En una realización, el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio coestimulador, p. ej., un dominio coestimulador descrito en esta memoria, p. ej., un dominio coestimulador CD27 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 23, y/o un dominio de señalización primario, p. ej., un dominio de señalización primario descrito en esta memoria, p. ej., un dominio estimulante de CD3 zeta que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98. En una realización, la molécula de ácido nucleico aislada que codifica la construcción CAR incluye una secuencia conductora codificada por la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 3, o una secuencia con un 95-99% de identidad con la misma. En una realización de la divulgación, la molécula de ácido nucleico aislada que incluye la construcción CAR incluye una secuencia del dominio de unión anti-CD123 codificada por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 73 y SEQ ID NO: 79, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma. En una realización, la molécula de ácido nucleico que codifica la construcción CAR incluye una secuencia de transmembrana codificada por la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 12, o una secuencia con un 95-99% de identidad con la misma. En una realización, la molécula de ácido nucleico aislada que codifica la construcción CAR incluye una secuencia de dominio de señalización intracelular codificada por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 27, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma y/o una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 99, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma.

En una realización de la divulgación, la molécula de ácido nucleico aislada comprende (p. ej., consiste en) un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos CAR de SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 83, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, 10, 15, 20 o 30 modificaciones (p. ej., sustituciones), pero no más de 60, 50 o 40 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 83, o una secuencia de aminoácidos que tiene 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 83. En una realización de la divulgación, la molécula de ácido nucleico aislada comprende (p. ej., consiste en) un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos CAR de SEQ ID NO: 1, o una secuencia

de aminoácidos que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, 10, 15, 20 o 30 modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 60, 50 o 40 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, o una secuencia de aminoácidos que tiene 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

5 En una realización de la divulgación, la molécula de ácido nucleico aislada comprende (p. ej., consiste en) una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76 o SEQ ID NO: 80 o una secuencia de ácido nucleico que tiene 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76 o SEQ ID NO: 80. En una realización, la molécula de ácido nucleico aislada comprende (p. ej., consiste en) una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 8, o una secuencia de ácido nucleico que tiene 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 8.

15 En un aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un dominio de unión anti-CD 123, en donde el dominio de unión anti-CD 123 comprende una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena ligera (LC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena ligera (LC CDR2) y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena ligera (LC CDR3) de un dominio de unión anti-CD 123 descrito en esta memoria, y una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena pesada (HC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena pesada (HC CDR2) y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena pesada (HC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 humanizado que comprende uno o más, p. ej., las tres LC CDRs y una o más, p. ej., las tres, HC CDRs. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 codificado comprende una región variable de la cadena ligera descrita en esta memoria (p. ej., en SEQ ID NO: 20 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78) y/o una región variable de la cadena pesada descrita en esta memoria (p. ej., en SEQ ID NO: 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78). En una realización, el dominio de unión anti-CD123 codificado es un scFv que comprende una cadena ligera y una cadena pesada de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un scFv) comprende: una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones), pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera proporcionada en SEQ ID NO: 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78; y/o una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada proporcionada en SEQ ID NO: 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 comprende una secuencia seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 o 78, o una secuencia con un 95-99% de identidad con la misma. En una realización de la divulgación, la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio de unión anti-CD123 comprende una secuencia seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 73 y SEQ ID NO: 79, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas.

45 En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula polipeptídica aislada codificada por la molécula de ácido nucleico. En una realización de la divulgación, la molécula de polipéptido aislada comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 83, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma.

50 En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de receptor de antígeno quimérico (CAR) aislada que comprende un dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD123), un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular (p. ej., un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio coestimulador y/o un dominio de señalización primario). En una realización de la divulgación, el CAR comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que incluye un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria (p. ej., un anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado que se une específicamente a CD123 tal como se describe en esta memoria), un dominio de transmembrana descrito en esta memoria y un dominio de señalización intracelular descrito en esta memoria (p. ej., un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio coestimulador y/o un dominio de señalización primario descrito en esta memoria).

60 En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 comprende una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena ligera (LC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena ligera (LC CDR2) y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena ligera (LC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, y una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena pesada (HC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena pesada (HC CDR2), y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena

pesada (HC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 humanizado que comprende una o más, p. ej., las tres LC CDRs y una o más, p. ej., las tres HC CDRs. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD 123 comprende una región variable de la cadena ligera descrita en esta memoria (p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101) y/o una región variable de la cadena pesada descrita en esta memoria (p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101). En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 es un scFv que comprende una cadena ligera y una cadena pesada de una secuencia de aminoácidos de la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un scFv) comprende: una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones), pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera proporcionada en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101 y/o una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 comprende una secuencia seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas.

En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 es un scFv y una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria, p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, está unida a una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos descrita en esta memoria, p. ej., en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, mediante un enlazador, p. ej., un enlazador descrito en esta memoria. En una realización, el dominio de unión anti-CD123 incluye un enlazador (Gly₄-Ser)_n, en donde n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6, preferiblemente 4 (SEQ ID NO: 126). La región variable de la cadena ligera y la región variable de la cadena pesada de un scFv pueden estar, por ejemplo, en cualquiera de las siguientes orientaciones: región variable de la cadena ligera-conector-región variable de la cadena pesada o región variable de la cadena pesada-conector-región variable de la cadena ligera.

En una realización, la molécula de CAR aislada comprende un dominio transmembrana de una proteína seleccionada del grupo que consiste en la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y CD154. En una realización, el dominio transmembrana comprende una secuencia de SEQ ID NO: 5. En una realización, el dominio transmembrana comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones), pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, o una secuencia con una identidad de un 95-99% respecto a una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5.

En una realización, el dominio de unión anti-CD 123 está conectado al dominio transmembrana mediante una región bisagra, p. ej., una región bisagra descrita en esta memoria. En una realización, la región bisagra codificada comprende SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 104 o SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 124, o una secuencia con un 95-99% de identidad con la misma.

En una realización, la molécula de CAR aislada comprende, además, una secuencia que codifica un dominio coestimulador, p. ej., un dominio coestimulador descrito en esta memoria. En una realización, el dominio coestimulador comprende un dominio de señalización funcional de una proteína seleccionada del grupo que consiste en OX40, CD2, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18) y 4-1BB (CD137). En una realización, el dominio coestimulador comprende una secuencia de SEQ ID NO: 6. En una realización, el dominio coestimulador comprende una secuencia de SEQ ID NO: 23. En una realización, el dominio coestimulador comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones), pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 o una secuencia con un 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23.

La molécula de CAR aislada comprende una secuencia que codifica un dominio de señalización intracelular, p. ej., un dominio de señalización intracelular descrito en esta memoria. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización funcional de 4-1BB y/o un dominio de señalización funcional de CD3 zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 y/o la secuencia de SEQ ID NO: 7. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de SEQ ID NO: 6 y la secuencia de SEQ ID NO: 98. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización funcional de CD27 y/o un dominio de señalización funcional de CD3 zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de SEQ ID NO: 23 y la secuencia de SEQ ID NO: 7. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de SEQ ID NO: 23 y la secuencia de SEQ ID NO: 98. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID. NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y/o una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, o una secuencia con 95-99% de identidad con

una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y/o una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y la secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, en donde las secuencias que comprenden el dominio de señalización intracelular se expresan en el mismo marco y como una cadena polipeptídica única.

En una realización, la molécula de CAR aislada comprende, además, una secuencia conductora, p. ej., una secuencia conductora descrita en esta memoria. En una realización, la secuencia conductora comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, o una secuencia con una identidad de un 95-99% respecto a una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3.

En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de CAR aislada que comprende una secuencia conductora, p. ej., una secuencia conductora descrita en esta memoria, p. ej., una secuencia conductora de SEQ ID NO: 3, o que tiene un 95-99% de identidad con la misma; un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 que comprende una LC CDR1, una LC CDR2, una LC CDR3, una HC CDR1, una HC CDR2 y una HC CDR3 descritas en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 descrito en la Tabla 1 o SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma; una región de bisagra, p. ej., una región de bisagra descrita en esta memoria, p. ej., una región de bisagra de SEQ ID NO: 4 o que tiene un 95-99% de identidad con la misma; un dominio transmembrana, p. ej., un dominio transmembrana descrito en esta memoria, p. ej., un dominio transmembrana que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 5 o una secuencia que tiene un 95-99% de identidad con la misma; un dominio de señalización intracelular, p. ej., un dominio de señalización intracelular descrito en esta memoria (p. ej., un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio coestimulador y/o un dominio de señalización primario). En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio coestimulador, p. ej., un dominio coestimulador descrito en esta memoria, p. ej., un dominio coestimulador 4-1BB que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 6, o un dominio coestimulador de CD27 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 23 o que tiene un 95-99% de identidad con el mismo, y/o un dominio de señalización primario, p. ej., un dominio de señalización primario descrito en esta memoria, p. ej., un dominio estimulador de CD3 zeta que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, o con un 95-99% de identidad con el mismo. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio coestimulador, p. ej., un dominio coestimulador descrito en esta memoria, p. ej., un dominio coestimulador 4-1BB que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 6 o un dominio coestimulador de CD27 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 23, y/o un dominio de señalización primario, p. ej., un dominio de señalización primario descrito en esta memoria, p. ej., un dominio estimulador de CD3 zeta que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98.

En una realización de la divulgación, la molécula de CAR aislada comprende (p. ej., consiste en) una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 83, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, 10, 15, 20 o 30 modificaciones (p. ej., sustituciones), pero no más de 60, 50 o 40 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 83, o una secuencia de aminoácidos que tiene 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 83. En una realización de la divulgación, la molécula de CAR aislada comprende (p. ej., consiste en) una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119 o SEQ ID NO: 121, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, 10, 15, 20 o 30 modificaciones (p. ej., sustituciones), pero no más de 60, 50 o 40 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119 o SEQ ID NO: 121, o una secuencia de aminoácidos que tiene 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119 o SEQ ID NO: 121.

En un aspecto, la divulgación pertenece a un dominio de unión anti-CD123 que comprende una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena ligera (LC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena ligera (LC CDR2) y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena ligera (LC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, y una o más (p. ej., las tres) región determinante de la complementariedad 1 de la cadena pesada (HC CDR1), región determinante de la complementariedad 2 de la cadena pesada (HC CDR2), y región determinante de la complementariedad 3 de la cadena pesada (HC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 humanizado que comprende una o más, p. ej., las tres LC CDRs y una o más, p. ej., las tres HC CDRs. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD 123 comprende una región variable de la cadena ligera descrita en esta memoria (p. ej., en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78) y/o una región variable de la cadena pesada descrita en esta memoria (p. ej., en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 78). En una realización, el dominio de unión anti-CD123 codificado es un scFv que comprende una cadena ligera y una cadena pesada de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, SEQ ID

5 NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 78. En una
realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un scFv) comprende: una región variable de la
cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p.
ej., sustituciones), pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos
de una región variable de la cadena ligera proporcionada en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ
10 ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, o SEQ ID NO: 78 o una secuencia con 95-99% de
identidad con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54,
SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 78; y/o una región variable de la cadena pesada que
comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones)
15 pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región
variable de la cadena pesada proporcionada de SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54,
SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con una
secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ
ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 78. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123
comprende una secuencia seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO:
48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99%
de identidad con la misma.

20 En otro aspecto, la divulgación pertenece a un vector que comprende una molécula de ácido nucleico descrita en este
memoria, p. ej., una molécula de ácido nucleico que codifica un CAR descrito en esta memoria. En una realización,
el vector se selecciona del grupo que consiste en un ADN, un ARN, un plásmido, un vector lentivirus, un vector
adenoviral o un vector retrovirus.

25 En una realización, el vector es un vector lentivirus. En una realización, el vector comprende, además, un promotor.
En una realización, el promotor es un promotor EF-1. En una realización, el promotor EF-1 comprende una secuencia
de la secuencia del promotor de SEQ ID NO: 106.

30 En una realización, el vector es un vector transcrito in vitro, p. ej., un vector que transcribe ARN de una molécula de
ácido nucleico descrita en esta memoria. En una realización, la secuencia de ácido nucleico en el vector comprende,
además, una cola de poli(A), p. ej., una cola de poli A descrita en esta memoria, p. ej., que comprende
aproximadamente 150 bases de adenosina (SEQ ID NO: 127). En una realización, la secuencia de ácido nucleico en
el vector comprende, además, una 3' UTR, p. ej., una UTR 3' descrita en esta memoria, p. ej., que comprende al
35 menos una repetición de una UTR 3' derivada de beta-globulina humana, p. ej., una UTR 3' presente en SEQ ID NO:
94. En una realización, la secuencia de ácido nucleico en el vector comprende, además, un promotor T2A, p. ej., un
promotor T2A presente en SEQ ID NO: 94.

40 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una célula que comprende un vector descrito en esta memoria. En una
realización, la célula es una célula descrita en esta memoria, p. ej., una célula T humana, p. ej., una célula T humana
descrita en esta memoria. En una realización, la célula T humana es una célula T CD8 +.

En otro aspecto, la divulgación pertenece a un método para producir una célula, que comprende transducir una célula
descrita en esta memoria, p. ej., una célula T descrita en esta memoria, con un vector que comprende un ácido nucleico
que codifica un CAR, p. ej., un CAR descrito en esta memoria.

45 La presente divulgación también proporciona un método para generar una población de células modificadas con ARN,
p. ej., células descritas en esta memoria, p. ej., células T, que expresan transitoriamente ARN exógeno. El método
comprende introducir un ARN transcrito in vitro o ARN sintético en una célula, donde el ARN comprende un ácido
nucleico que codifica una molécula de CAR descrita en la presente.

50 En otro aspecto, la divulgación pertenece a un método de proporcionar una inmunidad antitumoral en un mamífero,
que comprende administrar al mamífero una cantidad eficaz de una célula que expresa una molécula de CAR, p. ej.,
una célula que expresa una molécula de CAR descrita en esta memoria. En una realización, la célula es una célula T
autóloga. En una realización, la célula es una célula T alogénica. En una realización, el mamífero es un ser humano.

55 En otro aspecto, la divulgación pertenece a un método para tratar a un mamífero que tiene una enfermedad o trastorno
asociado con la expresión de CD123 (p. ej., una enfermedad proliferativa, una afección precancerosa y una indicación
no relacionada con el cáncer asociada con la expresión de CD123), que comprende administrar al mamífero una
cantidad eficaz de las células que expresan una molécula de CAR, p. ej., una molécula de CAR descrita en esta
memoria.

60 Las células que expresan una molécula de CAR, p. ej., una molécula de CAR descrita en esta memoria, pueden
administrarse en combinación con un agente que aumenta la eficacia de una célula que expresa una molécula de
CAR, p. ej., un agente descrito en esta memoria.

Las células que expresan una molécula de CAR, p. ej., una molécula de CAR descrita en esta memoria, pueden administrarse en combinación con un agente que mejora uno o más efectos secundarios asociados con la administración de una célula que expresa una molécula de CAR, p. ej., un agente descrito en esta memoria.

5 Las células que expresan una molécula de CAR, p. ej., una molécula de CAR descrita en esta memoria, pueden administrarse en combinación con un agente que trata la enfermedad asociada con CD123, p. ej., un agente descrito en esta memoria.

10 Las células que expresan una molécula de CAR, p. ej., una molécula de CAR descrita en esta memoria, pueden administrarse a una dosis y/o un programa de dosificación descrito en esta memoria.

15 Las células que expresan una molécula de CAR, p. ej., una molécula de CAR descrita en esta memoria, pueden administrarse como un tratamiento de primera línea para la enfermedad, p. ej., el cáncer, por ejemplo, el cáncer descrito en esta memoria. Las células que expresan una molécula de CAR, p. ej., una molécula de CAR descrita en esta memoria, pueden administrarse como un tratamiento de segunda, tercera, cuarta línea para la enfermedad, p. ej., el cáncer, por ejemplo, el cáncer descrito en esta memoria.

20 En una realización, el mamífero, p. ej., un ser humano, ha recibido previamente tratamiento con una terapia anti-CD 19, p. ej., una terapia CART de CD19. En una realización, el mamífero, p. ej., un ser humano, experimentó una recaída con la terapia anti-CD 19.

Puede administrarse a una población de células descritas en esta memoria.

25 En otro aspecto, la divulgación pertenece a un método de erradicar células normales que expresan CD123, comprendiendo el método administrar una célula que expresa una molécula de CAR descrita en esta memoria. En un aspecto, la erradicación se realiza en un sujeto al que se le ha administrado una célula que expresa la molécula de CAR CD123, de modo que el método es aplicable para su uso como terapia de acondicionamiento celular antes del trasplante de células. En una realización, la célula normal que expresa CD 123 es una célula madre que expresa CD123 y el trasplante de células comprende un trasplante de células madre. Por ejemplo, la célula que expresa una molécula de CAR CD123, p. ej., descrita en esta memoria, se utiliza para la ablación de la médula ósea para eliminar al menos una porción de la médula ósea existente de un sujeto. La ablación de la médula ósea, utilizando una célula que expresa una molécula de CAR CD123, puede realizarse, por ejemplo, en un sujeto que necesite un trasplante de médula ósea. Por ejemplo, una célula que expresa una molécula de CAR CD123, p. ej., una CART123, se utiliza en un régimen de acondicionamiento celular antes del trasplante de médula ósea o de células madre. Una célula que expresa una molécula de CAR CD123 puede utilizarse para la ablación de la médula ósea en al menos parte de un tratamiento para una enfermedad que incluye, pero no se limita a un cáncer hematológico, un tumor sólido, una enfermedad hematológica, un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno de almacenamiento lisosómico y una inmunodeficiencia.

40 En esta memoria se describe una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un CAR de la divulgación, una molécula polipeptídica aislada de un CAR de la divulgación, un vector que comprende un CAR de la divulgación y una célula que comprende un CAR de la divulgación para su uso como un medicamento. p. ej., tal como se describe en esta memoria.

45 También se describe una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un CAR de la divulgación, una molécula polipeptídica aislada de un CAR de la divulgación, un vector que comprende un CAR de la divulgación y una célula que comprende un CAR de la divulgación para su uso en el tratamiento de una enfermedad que expresa CD123, p. ej., una enfermedad que expresa CD123 tal como se describe en esta memoria.

50 En un aspecto, el CD123 CAR se utiliza para la terapia contra una enfermedad, trastorno o afección asociado con la expresión de CD123. En un aspecto, la enfermedad, el trastorno o la afección es cáncer asociado con la expresión de CD123, que incluye, pero no se limita a AML, síndrome mielodisplásico, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia de células pilosas, leucemia prolinfocítica, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin, neoplasia de células dendríticas plasmocitoide blástica, y similares.

55 En un aspecto, una célula que expresa un CAR CD123 se utiliza para la terapia del cáncer contra cánceres que expresan CD123. En una realización, el cáncer es un cáncer hematológico tal como, p. ej., leucemia mieloide aguda (AML).

60 La presente invención también se refiere, en general, al tratamiento de un paciente que tiene un cáncer asociado con la expresión de CD123, o que tiene el riesgo de tener un cáncer asociado con la expresión de CD123, utilizando la infusión celular. La infusión celular puede comprender al menos una célula que expresa CAR CD123. Un ejemplo de un cáncer asociado con la expresión de CD123 incluye, pero no se limita a AML, síndrome mielodisplásico, ALL, leucemia de células pilosas, leucemia prolinfocítica, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin, neoplasia de células dendríticas plasmocitoide blástica, y similares.

65

En una realización, la infusión de linfocitos, por ejemplo la infusión de linfocitos alogénicos, se utiliza en el tratamiento del cáncer, en donde la infusión de linfocitos comprende al menos una célula que expresa CAR CD123. En una realización, la infusión de linfocitos autólogos se utiliza en el tratamiento del cáncer, en donde la infusión de linfocitos autólogos comprende al menos una célula que expresa CD123. En otra realización, una célula que expresa CAR CD123 de la invención puede utilizarse para erradicar células normales que expresan CD123, siendo aplicable con ello para uso como terapia de acondicionamiento celular antes del trasplante celular. En una realización, la célula normal que expresa CD123 es una célula madre que expresa CD123 y el trasplante de células comprende un trasplante de células madre.

En un aspecto, la divulgación se refiere a un método de ablación de la médula ósea en un sujeto que comprende utilizar una célula que expresa CAR CD123, p. ej., descrita en esta memoria, para eliminar al menos una porción de médula ósea nativa en un sujeto que necesita un trasplante de médula ósea. Se describe un método para tratar a un sujeto que padece una enfermedad o trastorno en el que el trasplante de médula ósea puede ser beneficioso, que comprende administrar una célula que expresa Car CD123, p. ej., la descrita en esta memoria, a un sujeto que necesita un trasplante de médula ósea. Enfermedades ilustrativas en las que el presente método de usar una célula que expresa CAR CD123 para la ablación de la médula ósea puede utilizarse como al menos una parte de un tratamiento que incluyen, pero no se limitan a un cáncer hematológico, un tumor sólido, una enfermedad hematológica, un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno de almacenamiento lisosómico y una inmunodeficiencia.

En una realización, el CAR CD123 se introduce en células T, p. ej., utilizando la transcripción in vitro, y el sujeto (p. ej., ser humano) recibe una administración inicial de células que comprenden una molécula de CAR CD123, y una o más administraciones posteriores de células que comprenden una molécula de CAR CD123, en donde la una o más administraciones posteriores se administran durante menos de 15 días, p. ej., 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 días después de la administración previa. En una realización, se administra más de una administración de células que comprenden una molécula de CAR CD123 al sujeto (p. ej., ser humano) por semana, p. ej., se administran 2, 3 o 4 administraciones de células que comprenden una molécula de CAR CD123 por semana. En una realización, el sujeto (p. ej., sujeto humano) recibe más de una administración de células que comprenden una molécula de CAR CD123 por semana (p. ej., 2, 3 o 4 administraciones por semana) (a lo que también se alude en esta memoria como un ciclo), seguido de una semana sin administración de células que comprenden una molécula de CAR CD123, y luego se administra al sujeto una o más administraciones adicionales de células que comprenden una molécula de CAR CD123 (p. ej., más de una administración de las células que comprenden una molécula de CAR CD123 por semana). En otra realización, el sujeto (p. ej., un sujeto humano) recibe más de un ciclo de células que comprenden una molécula de CAR CD123, y el tiempo entre cada uno de los ciclos es menos de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 o 3 días. En una realización, las células que comprenden una molécula de CAR CD123 se administran cada dos días durante 3 administraciones por semana. En una realización, las células que comprenden una molécula de CAR CD123 se administran durante al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más semanas.

Se describe una población de células autólogas que se transfectan o transducen con un vector que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula de CAR CD123, p. ej., tal como se describe en esta memoria. En una realización, el vector es un vector retroviral. En una realización, el vector es un vector lentiviral auto-activante tal como se describe en otra parte de esta memoria. En una realización, el vector se suministra (p. ej., mediante transfección o electroporación) a una célula, p. ej., una célula T, en donde el vector comprende una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula de CAR CD123 tal como se describe en esta memoria, que se transcribe como una molécula de ARNm, y la molécula de CAR CD 123 se traduce de la molécula de ARN y se expresa en la superficie de la célula.

En una realización, la molécula de ácido nucleico que codifica una molécula de CAR CD123, p. ej., tal como se describe en esta memoria, se expresa como una molécula de ARNm. En una realización, las células que expresan CAR CD123 genéticamente modificadas, p. ej., células T, pueden generarse transfectando o electroporando una molécula de ARN que codifica los CARs deseados (p. ej., sin una secuencia de vector) en la célula. En una realización, una molécula de CAR CD123 se traduce a partir de la molécula de ARN una vez que se incorpora y expresa en la superficie de la célula recombinante.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra los resultados de los siguientes experimentos: (Figura 1A) Las muestras de AML de pacientes primarios son frecuentemente CD123⁺. Los blastos se activaron utilizando características de atenuación^{baja} CD45^{dim} de dispersión lateral estándar. (Figura 1B) La expresión de CD123 dentro de diferentes muestras primarias es heterogénea, pero siempre está presente, como lo revela la activación de blastos y utilizando linfocitos normales residuales o controles con isotipo coincidente para determinar la activación correcta de CD123. (Figura 1C) Subpoblaciones de CD123^{brillante} y CD123^{dim} se clasificaron por flujo a partir de muestras primarias de AML, y la expresión de ARN de CD123 se cuantificó utilizando Taqman RTqPCR. Se empleó una línea celular de melanoma (A375) como control negativo. (Figura 1D) Resultados de los ensayos de desgranulación y producción de citoquinas. (Figura 1E) Las células CART123, pero no las células CART19, producen citoquinas en respuesta a MOLM14 (una línea celular de AML CD123⁺) o AML primaria. La tinción de CAR se realizó utilizando CAR19 anti-idiotipo anti-ratón

o con Fab anti-ratón de cabra (para CAR CD123). Las citocinas intracelulares fueron IFN γ , MIP1 β y TNF α . (Figura 1F) Las células CART123, CART19 o T no transducidas se marcaron con CFSE y se expusieron a células AML primarias durante 96 horas. Se muestra la proliferación y el enriquecimiento de la población de células CART123. (Figura 1G) Un ensayo de exterminio basado en fluorocitometría durante la noche demostró el exterminio de blastos de AML primarios mediante CART123, pero no mediante células CART19. (Figura 1H) Elaboración de las citoquinas indicadas después de una incubación durante 24 horas de CART123 (negro) o CART19 (blanco) con MOLM14 AML.

5 La Figura 2 representa los resultados de experimentos que demuestran la eficacia preclínica de células CART CD 123 en modelos de xenoinjerto de AML humana. (Figura 2A) Esquema del modelo de xenoinjerto, IV: inyección intravenosa; BLI: formación de imágenes bioluminiscentes. La cuantificación de la radiancia BLI se utilizó como medición sustituta de la carga de AML. (Figura 2B) La erradicación de MOLM14 se produjo sólo en ratones xenoinjertados tratados con células CART123, medido por la radiancia BLI y mostrado colorimétricamente. (Figura 2C) Resumen de datos de BLI de tres experimentos de xenoinjerto MOLM14. (Figura 2D) El análisis de supervivencia de ratones con xenoinjerto portadores de MOLM14 demuestra una supervivencia significativa de los ratones tratados con CART123 en comparación con los ratones tratados con vehículo y con CART19. (Figura 2E) Esquema del modelo de re-estimulación. (Figura 2F) Resumen de BLI de ratones de control (no representados en la Figura 2E, estos ratones recibieron 1×10^6 *gfp/luciferasa*⁺ MOLM14 sin CART123 previo), ratones de estimulación primaria (fila superior en la Figura 2E) o ratones de estimulación secundaria que habían eliminado previamente MOLM14 (fila inferior en la Figura 2E). La línea de puntos indica el valor de referencia de BLI en ratones sin enfermedad por *luciferasa*⁺. (Figura 2G) Los ratones que experimentan una re-estimulación (estimulación secundaria) con MOLM14 demuestran un aumento más robusto en las células CART123 periféricas que los ratones que experimentan una estimulación primaria con MOLM14. (Figura 2H) Ratón representativo que demuestra que el injerto inicial exitoso de MOLM14 está asociado con un número bajo de PB CART123, y que el rechazo tardío va acompañado de una elevación en las células CART123.

10 La Figura 3 muestra los resultados de los siguientes experimentos: (Figura 3A) Esquema del modelo de xenoinjerto de AML primario (Figura 3B) Sangre periférica 15 días después de recibir células T (experimento D29) que muestra la erradicación o reducción marcada de blastos circulantes. (Figura 3C) Supervivencia compuesta de ratones de tres experimentos independientes. Se inyectaron células T en D15. (Figura 3D) Los blastos regulan al alza CD123 in vivo. Representación no activada de una AML primaria (UPN34) que muestra un nivel bajo de expresión de CD123 y un alto nivel de expresión de CD33. Tras la inyección en ratones NSGS tratados con células T no transducidas de control, UPN34 regulaba al alza la expresión de CD123 como se muestra utilizando una comparación antes de las células T (D13, izquierda) y después de las células T (D27, derecha). Todos los ratones que recibieron células T de control murieron posteriormente a causa de la enfermedad, y todos los ratones que recibieron células CART123 exhibieron una supervivencia a largo plazo. (Figura 3E) El nivel de expresión de CD123 se correlaciona inversamente con la proliferación y la mayor parte de la proliferación de blastos de AML se produce en la MO. Sangre, MO y bazo aislados de ratones moribundos se tiñeron para la expresión intracelular del marcador de la proliferación Ki67 después de la tinción en superficie para CD123 en blastos CD45^{dim}.

15 La Figura 4 muestra los resultados de los siguientes experimentos: (Figura 4A) Poblaciones progenitoras de médula ósea sanas exhiben una expresión de CD123 de moderada a brillante. FMO: fluorescencia menos uno. (Figura 4B) Progenitores de MO CD123^{dim/neg} se diferencian en CD123⁺ en cultivo semisólido. (Figura 4C) Células CART123 alteran notablemente la función hematopoyética. (Figura 4D) Las células de MO cíclicas regulan al alza CD123. (Figura 4E) Modelo de xenoinjerto para el potencial mieloablativo de células CART123. (Figura 4F) Se observa una disminución progresiva de células B humanas circulantes (izquierda) en ratones CART123, y se acompaña de un aumento de las células T (derecha). (Figura 4G) Mieloablación de MO humana en ratones CART123.

20 La Figura 5 representa los resultados de experimentos que demuestran que los blastos pueden crecer ex vivo independientemente de la expresión de CD123 de referencia.

25 La Figura 6 representa los resultados de experimentos que demuestran que CD123 se expresa a niveles equivalentes, independientemente de las poblaciones de células madre leucémicas, progenitoras o blastos en masa tal como se define como células CD34//CD38 primarias de AML.

30 La Figura 7 representa una representación esquemática de las diferentes construcciones de CAR CD123 (Figura 7A) y el mapa de vectores de una molécula de CAR CD123 (Figura 7B).

35 La Figura 8 representa los resultados de experimentos que demuestran la selección de la construcción CAR CD123 óptima.

40 La Figura 9 representa los resultados de experimentos que demuestran la formación de poblaciones de células de memoria en células CART123 después de la exposición a leucemia humana en ratones xenoinjertados. Los ratones previamente estimulados con AML (grupo de estimulación 2^{ya}) o no previamente estimulados (grupo de estimulación 1^{ya}) fueron inyectados con células CART123 y sangrados en serie para los números de células T de la sangre periférica y fenotipo.

45 La Figura 10 representa los resultados de experimentos en los que se inyectaron cuatro muestras de AML primarias en diferentes experimentos en ratones NSGS inmunodeficientes. Se ven niveles variables de CD123.

50 La Figura 11 representa una estrategia de activación para precursores normales de la médula ósea.

55 La Figura 12 representa los resultados de experimentos que demuestran que CD123 se expresa en células B y células mielomonocíticas circulantes normales.

60 La Figura 13 representa los resultados de los experimentos que demuestran la virtual ausencia de progenitores mieloides comunes definidos por citometría de flujo, precursores de granulocitos-monocitos o progenitores linfoides

comunes en la médula 28 días después de la infusión de células CART123 en ratones con "sistema inmunológico humanizado".

La Figura 14 es una imagen que demuestra la expresión de CD123 en la superficie de una muestra de médula ósea de ALL primaria, que también es positiva para el marcador CD34+. El panel superior muestra un diagrama de puntos, el panel inferior muestra un histograma de expresión por parte de las células CD34+ frente a la población CD34-negativa en la misma muestra.

La Figura 15 es una imagen que demuestra que las células CART123 reconocen selectivamente y son activadas por blastos B-ALL CD123 positivos.

La Figura 16 es una imagen que demuestra que células CART123 exterminan los blastos B-ALL.

La Figura 17 es un gráfico que muestra la expresión de CD19, CD22 y CD123 en muestras de ALL (A) de adultos y (B) pediátricas.

La Figura 18 es un gráfico que muestra la expresión de CD123 en un paciente que recae con CD19-ALL después de la terapia con CART19.

La Figura 19 es un gráfico que muestra la expresión de CD123 en otro paciente que recae con CD19-ALL después de la terapia con CART19.

La Figura 20 es un gráfico que muestra la proliferación en células T CART19 y CART123 después de la exposición a la línea celular B-ALL.

La Figura 21 es un gráfico que muestra la proliferación en células T CART19 y CART123 después de la exposición a muestras de ALL de células B primarias.

La Figura 22 es un gráfico que muestra la desgranulación de células CD123 en respuesta a NALM6 B-ALL, MOLM14, ALL primaria y AML primaria.

La Figura 23 es un gráfico que muestra la secreción de citoquinas solubles en respuesta a la exposición de células T CART19 y CART123 a muestras primarias de ALL. El co-cultivo se realizó con muestras primarias de ALL.

La Figura 24 es un gráfico que muestra la citotoxicidad a las 4 horas. Se ensayó la capacidad de las células T CART123 y CART19 de exterminar células B-ALL NALM6.

La Figura 25 es un gráfico que muestra la supervivencia de ratones NSG a los que se inyectaron 1×10^6 células de luciferasa verdes escarabajo de clic Nalm6 en D0. On D7, a los ratones se inyectaron células T UTD, células CART19, células CART123, o una población mixta 50:50 de CART19 y CART123 a una dosis celular total de 1×10^6 (grupo combinado).

La Figura 26 es una tabla que muestra las secuencias VH de anti-CD 123 humanizado (SEQ ID NOS 93 y 33-34, respectivamente, en orden de aparición).

La Figura 27 es una tabla que muestra las secuencias VL de anti-CD 123 humanizado (SEQ ID NOS 92 y 31-32, respectivamente, en orden de aparición).

La Figura 28 es una imagen que muestra la expresión de variantes de scFv anti-CD123 humanizadas que se expresaron transitoriamente en células HEK293 y se purificaron hasta casi homogeneidad mediante la etiqueta 6xHis C-terminal (SEQ ID NO: 128).

La Figura 29 es una imagen que muestra la expresión de variantes de scFv anti-CD123 humanizadas que se expresaron transitoriamente en células HEK293 y se purificaron hasta casi homogeneidad mediante la etiqueta 6xHis C-terminal (SEQ ID NO: 128).

La Figura 30 es un gráfico que muestra la unión de variantes de scFv anti-C123 humanizadas a CD123 inmovilizado determinada por ELISA.

La Figura 31 es un gráfico que muestra las temperaturas de fusión de variantes de scFv anti-CD 123 humanizadas medidas utilizando fluorimetría diferencial de barrido (DSF).

La Figura 32 es una imagen que muestra la expresión de CAR de superficie en células T transducidas el día 10 de expansión.

La Figura 33 es una imagen que muestra estudios funcionales de células T transducidas con diferentes construcciones CAR humanizadas, o con CAR anti-CD 123 humano de ratón de control.

La Figura 34 es un gráfico que muestra los resultados de los ensayos de exterminio con células T transducidas con diferentes construcciones de CAR humanizadas, o con CAR anti-CD123 humano de ratón de control.

La Figura 35 es una imagen que muestra el análisis de células T humanas electroporadas que se dejaron reposar durante la noche, seguido de una co-incubación durante 2 horas con dianas en presencia de anti-CD107a, anti-CD49d y anti-CD28, y monensina, en un ensayo de desgranulación estándar.

La Figura 36 es una imagen que muestra bioluminiscencia el D21 y D28 post-inyección de células T en ratones a los que se injertaron tumores.

La Figura 37 es un gráfico que muestra que células T electroporadas con ARN se pueden utilizar para inducir una respuesta antitumoral in vivo en animales inmunodeficientes.

La Figura 38 es una imagen que muestra la carga tumoral por formación de imágenes bioluminiscentes de ratones injertados en tumores inyectados con células T CD123 CART.

Descripción detallada

Definiciones

A menos que se defina lo contrario, todas las expresiones y términos técnicos y científicos utilizados en esta memoria tienen el mismo significado que el entendido un experto ordinario en la técnica a la que pertenece esta invención.

Los términos "un" y "una" se utilizan en esta memoria para hacer referencia a uno o más de uno (*es decir*, al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

5 El término "aproximadamente", tal como se utiliza en esta memoria cuando se refiere a un valor mensurable tal como una cantidad, una duración temporal y similares, pretende abarcar variaciones de $\pm 20\%$ o en algunos casos $\pm 10\%$, o en algunos casos $\pm 5\%$, o en algunos casos $\pm 1\%$, o en algunos casos $\pm 0,1\%$ del valor especificado, ya que variaciones de este tipo son apropiadas para realizar los métodos descritos.

10 Tal como se utilizan en esta memoria, las expresiones "subunidad alfa del receptor de IL-3", "IL3R α ", "CD123", "cadena de IL3R α " y "subunidad de IL3R α " se refieren indistintamente a un determinante antigénico del que se sabe que se puede detectar en las células precursoras de la leucemia. Las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos humanas y murinas se pueden encontrar en una base de datos pública, tal como GenBank, UniProt y Swiss-Prot. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de IL3R α humana se puede encontrar con el N.º de acceso NP 002174 y la secuencia de nucleótidos que codifica la IL3R α se puede encontrar con el N.º de acceso NM 005191. En un aspecto, la porción de unión al antígeno del CAR reconoce y se une a un antígeno dentro del dominio extracelular de la proteína CD123. En un aspecto, la proteína CD123 se expresa en una célula cancerosa.

20 Tal como se utilizan en esta memoria, "Receptor de Antígeno Quimérico" o, alternativamente, un "CAR" se refiere a una construcción polipeptídica recombinante que comprende al menos un dominio de unión a antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización citoplásmico (al que también se alude en esta memoria como "un dominio de señalización intracelular") que comprende un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora tal como se define en esta memoria. En un aspecto, la molécula estimulante es la cadena zeta asociada con el complejo receptor de células T. En un aspecto, el dominio de señalización intracelular comprende, además, uno o más dominios de señalización funcionales derivados de al menos una molécula coestimuladora tal como se define más adelante. En un aspecto, la molécula coestimuladora se elige entre 4-1BB (es decir, CD137), CD27 y/o CD28. En un aspecto, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de reconocimiento de antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización citoplásmico que comprende un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora. En un aspecto, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de reconocimiento de antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización citoplásmico que comprende un dominio de señalización funcional derivado de una molécula co-estimuladora y un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora. En un aspecto, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de reconocimiento del antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende dos dominios de señalización funcionales derivados de una o más moléculas coestimuladoras y un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora. En un aspecto, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de reconocimiento del antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende al menos dos dominios de señalización funcionales derivados de una o más moléculas coestimuladoras y un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimuladora. En un aspecto, el CAR comprende una secuencia líder opcional en el extremo amino (N-ter) de la proteína de fusión CAR. En un aspecto, el CAR comprende, además, una secuencia conductora en el extremo N del dominio de reconocimiento de antígeno extracelular, en donde la secuencia conductora se escinde opcionalmente del dominio de reconocimiento de antígeno, p. ej., un scFv) durante el procesamiento celular y la localización del CAR a la membrana celular. Tal como se utiliza en esta memoria, los términos intracelular y citoplasmático se utilizan indistintamente.

45 La expresión "dominio de señalización" se refiere a la porción funcional de una proteína que actúa transmitiendo información dentro de la célula para regular la actividad celular a través de vías de señalización definidas generando segundos mensajeros o funcionando como efectores que responden a mensajeros de este tipo.

50 El término "anticuerpo", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a una proteína o secuencia polipeptídica derivada de una molécula de inmunoglobulina que se une específicamente a un antígeno, p. ej., de forma no covalente, reversible y específica. Un anticuerpo puede ser policlonal o monoclonal, de cadena única o múltiple, o una inmunoglobulina intacta, y puede derivarse de fuentes naturales o de fuentes recombinantes. Un anticuerpo puede ser un tetrámero de una molécula de inmunoglobulina. Por ejemplo, un anticuerpo IgG presente en la naturaleza es un tetrámero que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada una de las cadenas pesadas comprende una región variable de la cadena pesada (abreviada en esta memoria como V_H) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios: CH1, CH2 y CH3. Cada una de las cadenas ligeras comprende una región variable de la cadena ligera (abreviada en esta memoria como V_L) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera está compuesta por un dominio, CL. Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse, además, en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada una de las V_H y V_L está compuesta por tres CDRs y cuatro FRs dispuestos desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inmunoglobulina a

tejidos o factores del huésped, incluyendo diversas células del sistema inmunitario (p. ej., células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico. El término "anticuerpo" incluye, pero no se limita a anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos de camélidos y anticuerpos quiméricos. Los anticuerpos pueden ser de cualquier isotipo/clase (p. ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY) o subclase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2).

La expresión "fragmento de anticuerpo" se refiere a al menos una porción de un anticuerpo intacto, o variantes recombinantes del mismo, y se refiere al dominio de unión al antígeno, p. ej., una región variable determinante antigénica de un anticuerpo intacto que es suficiente para conferir reconocimiento y unión específica. del fragmento de anticuerpo a una diana, tal como un antígeno. Ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv, fragmentos de anticuerpos de cadena sencilla o "scFv", anticuerpos lineales, anticuerpos de dominio único, tales como sdAb (ya sea V_L o V_H), dominios V_{HH} de camélidos y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. El término «scFv» se refiere a una proteína de fusión que comprende al menos un fragmento de anticuerpo que comprende una región variable de una cadena ligera y al menos un fragmento de anticuerpo que comprende una región variable de una cadena pesada, donde las regiones variable de la cadena ligera y pesada están ligadas de manera contigua a través de un conector polipeptídico flexible corto, y capaz de expresarse como una única cadena polipeptídica, y en donde el scFv mantiene la especificidad del anticuerpo intacto del cual procede. A menos que se especifique, tal como se utiliza en esta memoria, un scFv puede tener las regiones variables V_L y V_H en cualquier orden, p. ej., con respecto a los extremos N-terminal y C-terminal del polipéptido, el scFv puede comprender V_L-enlazador-V_H o puede comprender V_H-enlazador-V_L.

La parte de la composición CAR de la divulgación que comprende un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo del mismo puede existir en una diversidad de formas en las que el dominio de unión al antígeno se expresa como parte de una cadena polipeptídica contigua que incluye, por ejemplo, un fragmento de anticuerpo de dominio único (sdAb), un anticuerpo de cadena sencilla (scFv) y un anticuerpo humanizado (Harlow et al., 1999, En: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, En: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426). En un aspecto, el dominio de unión al antígeno de una composición de CAR de la invención comprende un fragmento de anticuerpo. En un aspecto adicional, el CAR comprende un fragmento de anticuerpo que comprende un scFv.

Por la expresión "anticuerpo recombinante", tal como se utiliza en esta memoria, se entiende un anticuerpo que se genera utilizando tecnología de ADN recombinante, tal como, por ejemplo, un anticuerpo expresado por un bacteriófago o un sistema de expresión en levaduras. La expresión también debe interpretarse para dar a entender un anticuerpo que se ha generado mediante la síntesis de una molécula de ADN que codifica el anticuerpo y cuya molécula de ADN expresa una proteína de anticuerpo, o una secuencia de aminoácidos que especifica el anticuerpo, en donde la secuencia de ADN o de aminoácidos se ha obtenido utilizando tecnología de secuencia de aminoácidos o ADN recombinante o sintético que está disponible y es bien conocida en la técnica.

La expresión "cadena pesada del anticuerpo" se refiere al mayor de los dos tipos de cadenas polipeptídicas presentes en las moléculas de anticuerpo en sus conformaciones que se producen de forma natural, y que normalmente determina la clase a la que pertenece el anticuerpo. La expresión «cadena ligera de anticuerpo» se refiere al menor de los dos tipos de cadenas polipeptídicas presentes en moléculas de anticuerpos en sus conformaciones de origen natural. Las cadenas ligeras kappa (κ) y lambda (λ) se refieren a los dos isotipos principales de la cadena ligera de anticuerpo.

La expresión «anticuerpo recombinante» se refiere a un anticuerpo que se genera utilizando tecnología de ADN recombinante, tal como, por ejemplo, un anticuerpo expresado por un bacteriófago o un sistema de expresión en levaduras. También se debe entender que la expresión se refiere a un anticuerpo que ha sido generado por la síntesis de una molécula de ADN que codifica el anticuerpo y donde la molécula de ADN expresa una proteína de anticuerpo, o una secuencia de aminoácidos que especifica el anticuerpo, en donde la secuencia de ADN o de aminoácidos se ha obtenido utilizando ADN recombinante o tecnología de secuencias de aminoácidos que está disponible y es muy conocida en la técnica.

El término "antígeno" o "Ag", tal como se utiliza en esta memoria, se define como una molécula que provoca una respuesta inmune. Esta respuesta inmune puede implicar la producción de anticuerpos o la activación de células inmunológicamente competentes específicas, o ambas. El experto en la técnica entenderá que cualquier macromolécula, incluidas virtualmente todas las proteínas o péptidos, puede servir como antígeno. Además, los antígenos pueden derivarse de ADN recombinante o genómico. Un experto entenderá que cualquier ADN, que comprende una secuencia de nucleótidos o una secuencia de nucleótidos parcial que codifica una proteína que provoca una respuesta inmunitaria, codifica, por lo tanto, un "antígeno" tal como se utiliza ese término en esta memoria. Además, un experto en la técnica entenderá que no es necesario que un antígeno esté codificado únicamente por una secuencia de nucleótidos completa de un gen. Es fácilmente evidente que la presente invención incluye, pero no se limita al uso de secuencias de nucleótidos parciales de más de un gen y que estas secuencias de nucleótidos están dispuestas en diversas combinaciones para codificar polipéptidos que provocan la respuesta inmune deseada. Además, un experto en la técnica entenderá que no es necesario que un antígeno esté codificado por un "gen" en

absoluto. Es fácilmente evidente que se puede generar, sintetizar o derivar un antígeno de una muestra biológica, o puede ser una macromolécula que no es necesariamente un polipéptido. Una muestra biológica de este tipo puede incluir, pero no se limita a una muestra de tejido, una muestra de tumor, una célula o un fluido con otros componentes biológicos.

5 La expresión "efecto antitumoral", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un efecto biológico que puede manifestarse por diversos medios, que incluyen, pero no se limitan a una disminución en el volumen del tumor, una disminución en el número de células tumorales, una disminución en el número de metástasis, un aumento de la esperanza de vida, disminución de la proliferación de células tumorales, disminución de la supervivencia de las células tumorales o mejora de diversos síntomas fisiológicos asociados con la afección cancerosa. Un "efecto antitumoral" también puede manifestarse por la capacidad de los péptidos, polinucleótidos, células y anticuerpos de la invención en la prevención de la aparición de tumores en primer lugar.

15 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "autólogo" se refiere a cualquier material derivado del mismo individuo al que posteriormente se reintroducirá en el individuo.

"Alogénico" se refiere a cualquier material derivado de un animal diferente de la misma especie que el individuo al que se le introduce el material. Se dice que dos o más individuos son alogénicos entre sí cuando los genes en uno o más loci no son idénticos. En algunos aspectos, el material alogénico de individuos de la misma especie puede ser lo suficientemente diferente desde un punto de vista genético para interactuar de manera antigénica.

"Xenogénico" se refiere a un injerto derivado de un animal de una especie diferente.

25 El término "cáncer", tal como se utiliza en esta memoria, se define como una enfermedad caracterizada por el crecimiento rápido y descontrolado de células aberrantes. Las células cancerosas pueden diseminarse localmente o a través del torrente sanguíneo y el sistema linfático a otras partes del cuerpo. Ejemplos de diversos cánceres incluyen, pero no se limitan a cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de piel, cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de cerebro, linfoma, leucemia, cáncer de pulmón y similares.

30 La expresión "enfermedad asociada con la expresión de CD123", tal como se utiliza en esta memoria, incluye, pero no se limita a una enfermedad asociada con la expresión de CD123 o afección asociada con células que expresan CD 123 incluyendo, p. ej., una enfermedad proliferativa tal como un cáncer o una neoplasia o una afección precancerosa, tal como una mielodisplasia, un síndrome mielodisplásico o una preleucemia; o una indicación no relacionada con el cáncer asociada con células que expresan CD123. En un aspecto, un cáncer asociado con la expresión de CD123 es un cáncer hematológico. En un aspecto, un cáncer hematológico incluye pero no se limita a AML, síndrome mielodisplásico, ALL, leucemia de células pilosas, leucemia prolinfocítica, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas y similares. Otras enfermedades asociadas con la expresión de expresión de CD123 incluyen, pero no se limitan a cánceres atípicos y/o no clásicos, neoplasias, afecciones precancerosas o enfermedades proliferativas asociadas con la expresión de CD123. También se pueden incluir las indicaciones no relacionadas con el cáncer asociadas con la expresión de CD123.

45 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "modificaciones de secuencia conservativas" pretende referirse a modificaciones de aminoácidos que no afectan o alteran significativamente las características de unión del anticuerpo o fragmento de anticuerpo que contiene la secuencia de aminoácidos. Tales modificaciones conservadoras incluyen sustituciones, adiciones y deleciones de aminoácidos. Pueden introducirse modificaciones en un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la invención mediante técnicas estándares conocidas en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis mediada por PCR. Las sustituciones de aminoácidos conservativas son aquellas en las que el residuo de aminoácido se reemplaza por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En la técnica se han definido las familias de residuos aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (p. ej., lisina, arginina, histidina), cadenas laterales de carácter ácido (p. ej., ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (p. ej., glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptófano), cadenas laterales no polares (p. ej., alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadenas laterales beta ramificadas (p. ej., treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (p. ej., tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por tanto, uno o más residuos de aminoácidos dentro de un CAR de la invención pueden reemplazarse por otros residuos de aminoácidos de la misma familia de cadenas laterales y el CAR alterado puede ensayarse para determinar la capacidad de unirse a CD123 utilizando los ensayos funcionales descritos en esta memoria.

60 Por el término "estimulación" se entiende una respuesta primaria inducida por la unión de una molécula estimulante (p. ej., un complejo TCR / CD3) con su ligando afín, mediando así un evento de transducción de señales, tal como, pero no limitado a la transducción de señales a través de el complejo TCR/CD3. La estimulación puede mediar en la expresión alterada de ciertas moléculas, tales como disminución regulada de TGF- β , y/o reorganización de estructuras citoesqueléticas, y similares.

65

Una "molécula estimuladora", tal como se utiliza la expresión en esta memoria, significa una molécula expresada por una célula T que proporciona la o las secuencias de señalización citoplasmáticas primarias que regulan la activación primaria del complejo TCR de una manera estimuladora para al menos algún aspecto de la vía de señalización de células T. En un aspecto, la señal primaria se inicia, por ejemplo, mediante la unión de un complejo TCR/CD3 con una molécula de MHC cargada con péptido, y que da lugar a la mediación de una respuesta de células T, que incluye, sin carácter limitante, proliferación, activación, diferenciación y similares. Una secuencia de señalización citoplasmática primaria (también denominada "dominio de señalización primaria") que actúa de manera estimuladora puede contener un motivo de señalización que se conoce como motivo de activación basado en tirosina de inmunorreceptores o ITAM. Ejemplos de un ITAM que contiene una secuencia de señalización citoplasmática primaria que es de uso particular en la invención incluye, pero no se limita a los derivados de TCR zeta, FcR gamma, FcR beta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 (también conocido como "ICOS") y CD66d. En una molécula de CAR específica de la invención, el dominio de señalización intracelular comprende una secuencia de señalización intracelular, p. ej., una secuencia de señalización primaria de CD3-zeta. En un CAR específico de la invención, la secuencia de señalización primaria de CD3-zeta es la secuencia humana (SEQ ID NO: 98), o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y similares.

Una "célula presentadora de antígeno" o "APC", tal como se utiliza en esta memoria, significa una célula del sistema inmunológico, tal como una célula accesoria (p. ej., una célula B, una célula dendrítica y similares) que muestra un antígeno extraño complejado con complejos principales de histocompatibilidad. (MHC) en su superficie. Las células T pueden reconocer estos complejos utilizando sus receptores de las células T (TCRs). Las APC procesan antígenos y los presentan a las células T.

Un "dominio de señalización intracelular", tal como se utiliza la expresión en esta memoria, se refiere a una porción intracelular de una molécula. El dominio de señalización intracelular genera una señal que fomenta una función efectora inmune de la célula que contiene CAR, p. ej., una célula CART. Ejemplos de la función efectora inmune, p. ej., en una célula CART, incluyen actividad citolítica y actividad auxiliar, incluida la secreción de citoquinas.

En una realización, el dominio de señalización intracelular puede comprender un dominio de señalización intracelular primaria. Los dominios de señalización intracelular primaria a modo de ejemplo incluyen los derivados de las moléculas responsables de la estimulación primaria, o simulación dependiente de antígeno. En una realización, el dominio de señalización intracelular puede comprender un dominio intracelular coestimulador. Los dominios de señalización intracelular coestimuladores a modo de ejemplo incluyen los derivados de las moléculas responsables de las señales coestimuladoras, o la simulación independiente de antígeno. Por ejemplo, en el caso de un CART, un dominio de señalización intracelular primaria puede comprender una secuencia citoplasmática de un receptor de células T, y un dominio de señalización intracelular co-estimuladora puede comprender una secuencia citoplasmática de molécula co-receptora o co-estimuladora.

Un dominio de señalización intracelular primaria puede comprender un motivo de señalización que se conoce como un motivo de activación basado en tirosina de inmunorreceptores o ITAM. Ejemplos de secuencias de señalización citoplasmática primaria que contiene ITAM incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de CD3 zeta, FcR gamma, FcR beta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b, y CD66d DAP10 y DAP12.

Tal como se utiliza en esta memoria, "zeta" o alternativamente "cadena zeta", "CD3-zeta" o "TCR-zeta" se define como la proteína proporcionada como N^o de acceso BAG36664.1 del GenBank, o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y similares, y un "dominio estimulador zeta" o alternativamente un "dominio estimulador CD3-zeta" o un "dominio estimulador de TCR-zeta" se define como los residuos de aminoácidos del dominio citoplasmático de la cadena zeta que son suficientes para transmitir funcionalmente una señal inicial necesaria para la activación de las células T. En un aspecto, el dominio citoplasmático de zeta comprende los residuos 52 a 164 del N.^o de acceso BAG36664.1 del GenBank o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y similares, que son ortólogos funcionales de estos. En un aspecto, el "dominio estimulador zeta" o un "dominio estimulador CD3-zeta" es la secuencia proporcionada como SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 98. Una "molécula coestimuladora" se refiere al participante en la unión análoga en una célula T que se une específicamente con un ligando coestimulador, mediando con ello una respuesta coestimuladora por la célula T, tal como, pero no limitado a, la proliferación. Las moléculas coestimuladoras son moléculas de la superficie celular distintas de los receptores del antígeno o sus ligandos que se requieren para una respuesta inmunitaria eficaz. Moléculas coestimuladoras incluyen, pero no se limitan a una molécula de MHC de clase I, BTLA y un receptor de ligando Toll, así como OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18) y 4-1BB (CD137).

Un dominio de señalización intracelular coestimulador puede derivarse de la porción intracelular de una molécula coestimuladora. Una molécula coestimuladora puede representarse en las siguientes familias de proteínas: proteínas receptoras de TNF, proteínas de tipo inmunoglobulina, receptores de citoquinas, integrinas, moléculas de activación linfocítica de señalización (proteínas SLAM) y receptores de células NK activantes. Ejemplos de moléculas de este tipo incluyen CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, antígeno 1 asociado a la función de los linfocitos (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 y un ligando que se une específicamente con CD83 y similares.

El dominio de señalización intracelular puede comprender la porción intracelular completa, o el dominio de señalización intracelular nativo completo, de la molécula de la que procede, o un fragmento funcional de esta.

Tal como se utiliza en esta memoria, "4-1BB" se refiere a un miembro de la superfamilia TNFR con una secuencia de aminoácidos proporcionada como N^o de acceso AAA62478.2 del GenBank, o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y similares; y un "dominio coestimulador 4-1BB" se define como los residuos de aminoácidos 214-255 del N^o de acceso AAA62478.2 del GenBank, o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y similares. En un aspecto, el "dominio coestimulador 4-1BB" es la secuencia humana o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y similares. En un aspecto, el "dominio coestimulador de 4-1BB" es la secuencia proporcionada como SEQ ID NO: 6 o los residuos equivalentes de una especie no humana, p. ej., ratón, roedor, mono, simio y similares.

"Codificación" se refiere a la propiedad inherente de secuencias específicas de nucleótidos en un polinucleótido, tal como un gen, un ADNc o un ARNm, para servir como moldes para la síntesis de otros polímeros y macromoléculas en procesos biológicos que tienen una secuencia definida de nucleótidos. (p.ej., ARNr, ARNt y ARNm) o una secuencia definida de aminoácidos y las propiedades biológicas resultantes de la misma. Por tanto, un gen, ADNc o ARN codifica una proteína si la transcripción y traducción del ARNm correspondiente a ese gen, ADNc o ARN produce la proteína en una célula u otro sistema biológico. Tanto a la cadena codificante, cuya secuencia de nucleótidos es idéntica a la secuencia de ARNm y generalmente se proporciona en listas de secuencias, como a la cadena no codificante, utilizada como el molde para la transcripción de un gen o ADNc, se las puede denominar codificantes de la proteína u otro producto de ese gen o ADNc.

A menos que se especifique lo contrario, una "secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos" incluye todas las secuencias de nucleótidos que son versiones degeneradas entre sí y que codifican la misma secuencia de aminoácidos. Secuencias de nucleótidos que codifican proteínas o un ARN también pueden incluir intrones en la medida en que la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína puede contener en alguna versión uno o más intrones.

"Cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se utilizan indistintamente en esta memoria y se refieren a una cantidad de un compuesto, formulación, material o composición, tal como se describe en esta memoria, eficaz para lograr un resultado biológico particular.

Tal como se utiliza en esta memoria, "endógeno" se refiere a cualquier material de o producido dentro de un organismo, célula, tejido o sistema.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "endógeno" se refiere a cualquier material de o producido fuera de un organismo, célula, tejido o sistema.

El término "expresión", tal como se utiliza en esta memoria, se define como la transcripción y/o traducción de una secuencia de nucleótidos particular impulsada por una secuencia reguladora, p. ej., un promotor.

La expresión "vector de transferencia" se refiere a una composición de materia que comprende un ácido nucleico aislado y que se puede utilizar para suministrar el ácido nucleico aislado al interior de una célula. Se conocen numerosos vectores en la técnica que incluyen, pero no se limitan a polinucleótidos lineales, polinucleótidos asociados con compuestos iónicos o anfífilos, plásmidos y virus. Por lo tanto, la expresión "vector de transferencia" incluye un virus o un plásmido que se replica de forma autónoma. El término también debe interpretarse para incluir, además, compuestos no plásmidos y no virales que facilitan la transferencia de ácido nucleico a las células, tales como, por ejemplo, un compuesto de polilisina, un liposoma y similares. Ejemplos de vectores de transferencia víricos incluyen, sin carácter limitante, vectores adenovíricos, vectores de virus adenoasociados, vectores retrovíricos, vectores lentivíricos y similares.

"Vector de expresión" se refiere a un vector que comprende un polinucleótido recombinante que comprende secuencias de control de la expresión enlazadas operativamente a una secuencia de nucleótidos que se ha de expresar. Un vector de expresión comprende suficientes elementos de acción cis para la expresión; otros elementos para la expresión pueden ser suministrados por la célula hospedadora o en un sistema de expresión in vitro. Vectores de expresión incluyen todos los conocidos en la técnica, incluyendo cósmidos, plásmidos (p. ej., desnudos o contenidos en liposomas) y virus (p. ej.,, lentivirus, retrovirus, adenovirus y virus adeno-asociados) que incorporan el polinucleótido recombinante.

El término "homólogo" o "identidad", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a la identidad de secuencia de subunidades entre dos moléculas poliméricas, p. ej., entre dos moléculas de ácido nucleico, tales como dos moléculas de ADN o dos moléculas de ARN, o entre dos moléculas de polipéptido. Cuando una posición de subunidad en ambas moléculas está ocupada por la misma subunidad monomérica; p. ej., si una posición en cada una de las dos moléculas de ADN está ocupada por adenina, entonces son homólogas o idénticas en esa posición. La homología entre dos secuencias es una función directa del número de posiciones coincidentes u homólogas; p. ej.,, si la mitad (p. ej.,,

cinco posiciones en un polímero de diez subunidades de longitud) de las posiciones en dos secuencias son homólogas, las dos secuencias son 50% homólogas; si el 90% de las posiciones (*p.ej.*, 9 de 10), se emparejan o son homólogas, las dos secuencias son 90% homólogas.

5 Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (*p. ej.*, murinos) son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulina o fragmentos de estas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de anticuerpos que se unen al antígeno) que contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados y sus fragmentos de anticuerpos son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo o fragmentos de anticuerpo del receptor) en las que los residuos de una región determinante de complementariedad (CDR) del receptor se reemplazan por residuos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata o conejo que tenga la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los residuos de la región de marco (FR) Fv de la inmunoglobulina humana son reemplazados por los residuos no humanos correspondientes. Además, un anticuerpo humanizado o un fragmento de anticuerpo puede comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo o fragmento de anticuerpo receptor ni en la CDR importada o en las secuencias marco. Estas modificaciones pueden refinar y optimizar adicionalmente el comportamiento del anticuerpo o fragmento de anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado o el fragmento de anticuerpo de este comprenderá sustancialmente la totalidad de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana y todas o una parte significativa de las regiones FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una inmunoglobulina humana. Para detalles adicionales, véase Jones et al., *Nature*, 321: 522-525, 1986; Reichmann et al., *Nature*, 332: 323-329, 1988; Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2: 593-596, 1992.

25 La expresión anticuerpo "humano" se refiere a anticuerpos completamente humanos, así como a anticuerpos efectivamente humanos. "Completamente humana" se refiere a una inmunoglobulina, tal como un anticuerpo o fragmento, en que la molécula completa es de origen humano o consiste en una secuencia de aminoácidos idéntica a una forma humana del anticuerpo o inmunoglobulina. Un anticuerpo "efectivamente humano" es un anticuerpo que incluye un número suficiente de posiciones de aminoácidos humanos, de manera que el anticuerpo no provoca una respuesta inmunogénica en un ser humano normal.

30 Tal como se utiliza en este memoria, un "material instructivo" incluye una publicación, una grabación, un diagrama o cualquier otro medio de expresión que pueda utilizarse para comunicar la utilidad de las composiciones y los métodos de la invención. El material instructivo de la descripción del kit puede, por ejemplo, fijarse a un recipiente que contiene el ácido nucleico, péptido y/o composición de la invención o enviarse junto con un recipiente que contiene el ácido nucleico, péptido y/o composición. Alternativamente, el material instructivo puede enviarse por separado del recipiente con la intención de que el destinatario utilice el material instructivo y el compuesto en cooperación.

40 El término "aislado" significa alterado o retirado del estado natural. Por ejemplo, un ácido nucleico o un péptido presente de forma natural en un animal vivo no está "aislado", pero el mismo ácido nucleico o péptido separado parcial o completamente de los materiales con los que coexiste en su estado natural está «aislado». Un ácido nucleico o proteína aislado puede existir en una forma sustancialmente purificada, o puede existir en un entorno no nativo, tal como, por ejemplo, una célula hospedadora.

45 En el contexto de la presente invención, se utilizan las siguientes abreviaturas para las bases de ácidos nucleicos que se producen de manera habitual. "A" se refiere a adenosina, "C" se refiere a citosina, "G" se refiere a guanosina, "T" se refiere a timidina y "U" se refiere a uridina.

50 Un "lentivirus", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un género de la familia Retroviridae. Los lentivirus son únicos entre los retrovirus ya que son capaces de infectar células que no se dividen; pueden suministrar una cantidad significativa de información genética al ADN de la célula huésped, por lo que son uno de los métodos más eficaces de un vector de suministro de genes. El HIV, SIV y FIV son ejemplos de lentivirus.

55 Un "vector lentiviral" es un vector derivado de al menos una porción de un genoma de lentivirus, que incluye especialmente un vector lentiviral auto-activante tal como se proporciona en Milone et al., *Mol. Ther.* 17(8): 1453-1464 (2009). Otros Ejemplos o vectores lentivirus que pueden utilizarse en la clínica incluyen, pero no se limitan a, *p. ej.*, la tecnología de suministro de genes LENTIVECTOR® de Oxford BioMedica, el sistema de vector LENTIMAX™ de Lentigen y similares. También se puede disponer de tipos no clínicos de vectores lentivirales y estos son conocidos para el experto en la técnica.

60 La expresión "enlazado operativamente" o alternativamente "control transcripcional" se refiere al enlace funcional entre una secuencia reguladora y una secuencia de ácido nucleico heteróloga que da como resultado la expresión de esta última. Por ejemplo, una primera secuencia de ácido nucleico está enlazada operablemente con una segunda secuencia de ácido nucleico cuando la primera secuencia de ácido nucleico se coloca en una relación funcional con la segunda secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, un promotor está enlazado operablemente a una secuencia codificante si el promotor afecta a la transcripción o expresión de la secuencia codificante. Las secuencias de ADN

ligadas operablemente pueden ser contiguas entre sí y, por ejemplo, cuando sea necesario unir dos regiones codificantes de proteínas, están en el mismo marco de lectura.

La administración "parenteral" de una composición inmunogénica incluye, p. ej., técnicas de inyección subcutánea (s.c.), intravenosa (i.v.), intramuscular (i.m.) o intraesternal, intratumoral o de infusión.

La expresión "ácido nucleico" o "polinucleótido" se refiere a ácidos desoxirribonucleicos (ADN) o ácidos ribonucleicos (ARN) y polímeros de los mismos en forma de cadena sencilla o doble. A menos que se limite específicamente, la expresión abarca ácidos nucleicos que contienen análogos conocidos de nucleótidos naturales que tienen propiedades de unión similares a las del ácido nucleico de referencia y se metabolizan de una manera similar a los nucleótidos que se producen de forma natural. A menos que se indique lo contrario, una secuencia particular de ácidos nucleicos también abarca implícitamente variantes modificadas de forma conservativa de la misma (p. ej., sustituciones de codones degenerados), alelos, ortólogos, SNPs y secuencias complementarias, así como la secuencia indicada explícitamente. Específicamente, sustituciones de codones degenerados se pueden lograr generando secuencias en las que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) se sustituye con residuos de base mixta y/o desoxiinosina (Batzet et al., *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985) y Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994)).

Tal como se utiliza en esta memoria, los términos "péptido", "polipéptido" y "proteína" se utilizan indistintamente, y se refieren a un compuesto que comprende residuos de aminoácidos enlazados covalentemente por enlaces peptídicos. Una proteína o un péptido debe contener al menos dos aminoácidos, y no se limita el número máximo de aminoácidos que puede comprender una secuencia proteica o peptídica. Los polipéptidos incluyen cualquier péptido o proteína que comprende dos o más aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos. Tal como se utiliza en esta memoria, el término se refiere tanto a cadenas cortas, a las que también se alude comúnmente en la técnica como péptidos, oligopéptidos y oligómeros, por ejemplo, como a cadenas más largas, a las que generalmente se alude en la técnica como proteínas, de las cuales existen muchos tipos. Los «polipéptidos» incluyen, por ejemplo, fragmentos con actividad biológica, polipéptidos sustancialmente homólogos, oligopéptidos, homodímeros, heterodímeros, variantes de polipéptidos, polipéptidos modificados, derivados, análogos, proteínas de fusión, entre otros. Un polipéptido incluye un péptido natural, un péptido recombinante, un péptido sintético o una combinación de los mismos.

El término "promotor", tal como se utiliza en esta memoria, se define como una secuencia de ADN reconocida por la maquinaria sintética de la célula, o maquinaria sintética introducida, requerida para iniciar la transcripción específica de una secuencia de polinucleótidos.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "secuencia de promotor/regulador" significa una secuencia de ácido nucleico que se requiere para la expresión de un producto génico operativamente enlazado a la secuencia de promotor/regulador. En algunos casos, esta secuencia puede ser la secuencia de promotor central y en otros casos, esta secuencia también puede incluir una secuencia de potenciador y otros elementos reguladores que se requieren para la expresión del producto génico. La secuencia de promotor/regulador puede ser, por ejemplo, una que exprese el producto génico de una manera específica para el tejido.

Un promotor "constitutivo" es una secuencia de nucleótidos que, cuando se enlaza operativamente con un polinucleótido que codifica o especifica un producto génico, hace que el producto génico se produzca en una célula en la mayoría o en todas las condiciones fisiológicas de la célula.

Un promotor "inducible" es una secuencia de nucleótidos que, cuando está operativamente enlazada con un polinucleótido que codifica o especifica un producto génico, hace que el producto génico se produzca en una célula sustancialmente solo cuando un inductor, que corresponde al promotor, está presente en la célula.

Un promotor "específico para el tejido" es una secuencia de nucleótidos que, cuando está operativamente enlazada con un polinucleótido codificado o especificado por un gen, hace que el producto génico se produzca en una célula sustancialmente solo si la célula es una célula del tipo de tejido correspondiente al promotor.

Un "enlazador polipeptídico flexible", tal como se utiliza en el contexto de un scFv, se refiere a un enlazador peptídico que consiste en aminoácidos tales como residuos de glicina y/o serina utilizados solos o en combinación, para enlazar regiones variables de cadena pesada y cadena ligera variable. En una realización, el enlazador polipeptídico flexible es un enlazador Gly/Ser y comprende la secuencia de aminoácidos (Gly-Gly-Gly-Ser)_n (SEQ ID NO: 129), en que n es un número entero positivo igual a o mayor que 1. Por ejemplo, n=1, n=2, n=3, n=4, n=5 y n=6, n=7, n=8, n=9 y n=10. En una realización, los enlazadores polipeptídicos flexibles incluyen, pero no se limitan a (Gly₄ Ser)₄ (SEQ ID NO: 130) o (Gly₄ Ser)₃ (SEQ ID NO: 131). En otra realización, los enlazadores incluyen múltiples repeticiones de (Gly₂Ser), (GlySer) o (Gly₃Ser) (SEQ ID NO: 129). También se incluyen dentro del alcance de la invención enlazadores descritos en el documento WO2012/138475).

Tal como se utiliza en esta memoria, una caperuza 5' (también denominada una caperuza de ARN, una caperuza de ARN 7-metilguanosa o una caperuza de ARN m⁷G) es un nucleótido de guanina modificado que ha sido añadido al

extremo "frontal" o 5' de un ARN mensajero eucariota poco después del inicio de la transcripción. La caperuza 5' está constituida por un grupo terminal que está enlazado al primer nucleótido transcrito. Su presencia es crucial para el reconocimiento por parte del ribosoma y la protección contra las RNasas. La adición de la caperuza está acoplada a la transcripción, y se produce a la vez que la transcripción, de modo que cada una influye en la otra. Poco después del comienzo de la transcripción, se une al extremo 5' del ARNm que está siendo sintetizado un complejo de síntesis de la caperuza asociado con ARN polimerasa. Este complejo enzimático cataliza las reacciones químicas que se requieren para la generación de la caperuza del ARNm. La síntesis prosigue como una reacción bioquímica de múltiples etapas. El resto de adición de la caperuza se puede modificar para modular la funcionalidad del ARNm tal como su estabilidad o eficacia de traducción.

Tal como se utiliza en la presente, «ARN transcrito *in vitro*» se refiere a ARN, preferentemente ARNm, que ha sido sintetizado *in vitro*. Generalmente, el ARN transcrito *in vitro* se genera a partir de un vector de transcripción *in vitro*. El vector de transcripción *in vitro* comprende un molde que se utiliza para generar el ARN transcrito *in vitro*.

Tal como se utiliza en la presente, un «poli(A)» es una serie de adenosinas unidas por poliadenilación al ARNm. En la realización preferida de un constructo para la expresión transitoria, el poliA está entre 50 y 5000 (SEQ ID NO: 132), preferentemente más de 64, más preferentemente más de 100, de la manera más preferente más de 300 o 400. Las secuencias de poli(A) se pueden modificar por medios químicos o enzimáticos para modular la funcionalidad del ARNm, tal como la ubicación, estabilidad o eficacia de la traducción.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "poliadenilación" se refiere al enlace covalente de un resto poliadenililo, o su variante modificada, a una molécula de ARN mensajero. En los organismos eucariotas, la mayoría de las moléculas de ARN mensajero (ARNm) están poliadeniladas en el extremo 3'. La cola de poli(A) 3' es una secuencia larga de nucleótidos de adenina (a menudo varios cientos) añadidos al pre-ARNm a través de la acción de una enzima, la poliadenilato polimerasa. En eucariotas superiores, la cola de poli(A) se añade a transcritos que contienen una secuencia específica, la señal de poliadenilación. La cola de poli(A) y la proteína unida a ella ayudan a proteger el ARNm de la degradación por parte de exonucleasas. La poliadenilación también es importante para la terminación de la transcripción, la exportación del ARNm desde el núcleo y la traducción. La poliadenilación ocurre en el núcleo inmediatamente después de la transcripción de ADN en ARN, pero además también puede ocurrir más tarde en el citoplasma. Después de finalizar la transcripción, la cadena de ARNm es escindida por la acción de un complejo de endonucleasa asociado con ARN polimerasa. El sitio de escisión generalmente se caracteriza por la presencia de la secuencia de bases AAUAAA cerca del sitio de escisión. Una vez que se ha escindido el ARNm, se añaden residuos de adenosina al extremo 3' libre en el sitio de escisión. Una "vía de transducción de señales" se refiere a la relación bioquímica entre una diversidad de moléculas de transducción de señales que desempeñan un papel en la transmisión de una señal de una parte de una célula a otra parte de una célula. La expresión "receptor de la superficie celular" incluye moléculas y complejos de moléculas capaces de recibir una señal y transmitir la señal a través de la membrana de una célula.

El término "sujeto" pretende incluir organismos vivos en los que se puede provocar una respuesta inmunitaria (p. ej., mamíferos, incluido el ser humano).

Tal como se utiliza en esta memoria, una célula "sustancialmente purificada" es una célula que está esencialmente libre de otros tipos de células. Una célula sustancialmente purificada también se refiere a una célula que ha sido separada de otros tipos de células con las que normalmente está asociada en su estado natural. En algunos casos, una población de células sustancialmente purificadas se refiere a una población homogénea de células. En otros casos, esta expresión se refiere simplemente a la célula que ha sido separada de las células con las que está normalmente asociada en su estado natural. En algunos aspectos, las células se cultivan *in vitro*. En otros aspectos, las células no se cultivan *in vitro*.

Por el término "sintético", cuando se refiere a un ácido nucleico o polipéptido, incluido un anticuerpo, se entiende un ácido nucleico, polipéptido, incluido un anticuerpo, que ha sido generado por un mecanismo que no se encuentra de forma natural dentro de una célula. En algunos casos, el término "sintético" puede incluir y, por lo tanto, solaparse con el término «recombinante» y, en otros casos, el término "sintético" significa que el ácido nucleico, polipéptido, incluyendo un anticuerpo, ha sido generado por métodos puramente químicos u otros medios.

El término "terapéutico", tal como se utiliza en esta memoria, significa un tratamiento. Se obtiene un efecto terapéutico por reducción, supresión, remisión o erradicación de un estado patológico.

El término "profilaxis", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a la prevención o el tratamiento protector para una enfermedad o estado patológico.

El término "transfectado" o "transformado" o "transducido", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un proceso mediante el cual se transfiere o introduce ácido nucleico exógeno en la célula huésped. Una célula «transfectada» o «transformada» o «transducida» es una que ha sido transfectada, transformada o transducida con ácido nucleico exógeno. La célula incluye la célula objeto principal y su progenie.

Tal como se utiliza en esta memoria, "transitorio" se refiere a la expresión de un transgén no integrado durante un período de horas, días o semanas, en el que el período de tiempo de expresión es menor que el período de tiempo para la expresión del gen si está integrado en el genoma. o contenido dentro de un replicón plasmídico estable en la célula huésped. La frase "bajo control transcripcional" o "operativamente enlazado", tal como se utiliza en esta memoria, significa que el promotor está en la ubicación y orientación correctas en relación con un polinucleótido para controlar el inicio de la transcripción por ARN polimerasa y expresión del polinucleótido.

Un "vector" es una composición de materia que comprende un ácido nucleico aislado y que se puede utilizar para suministrar el ácido nucleico aislado al interior de una célula. Se conocen numerosos vectores en la técnica que incluyen, sin carácter limitante, polinucleótidos lineales, polinucleótidos asociados con compuestos iónicos o anfífilos, plásmidos y virus.

Por la expresión "se une específicamente", tal como se utiliza en esta memoria, se entiende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o un ligando, que reconoce y se une con un participante en la unión afin (*p. ej.*, una molécula estimuladora y/o coestimuladora presente en una célula T) proteína presente en una muestra, pero cuyo anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo o ligando no reconoce ni se une sustancialmente a otras moléculas en la muestra.

Intervalos: a lo largo de esta divulgación, se pueden presentar en un formato de intervalo diversos aspectos de la invención. Se debe entender que la descripción en formato de intervalo es meramente por conveniencia y brevedad y no se debe interpretar como una limitación inflexible en el alcance de la invención. Por consiguiente, se debe considerar que la descripción de un intervalo divulga específicamente todos los posibles subintervalos, así como también los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, se debe considerar que la descripción de un intervalo tal como de 1 a 6 divulga específicamente subintervalos tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como también números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 2,7, 3, 4, 5, 5,3 y 6. Como otro ejemplo, un intervalo tal como un 95-99% de identidad, incluye algo con una identidad de un 95%, 96%, 97%, 98% o un 99%, e incluye subintervalos tales como una identidad de un 96-99%, 96-98%, 96-97%, 97-99%, 97-98% y 98-99%. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

Descripción

En esta memoria se describen composiciones y métodos de uso para el tratamiento de una enfermedad tal como un cáncer utilizando un receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD123 y células T que comprenden una molécula CAR CD123.

En un aspecto, la divulgación proporciona construcciones CAR CD123 que comprenden un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une específicamente a una proteína CD123 expresada en la superficie celular. En un aspecto, la divulgación proporciona una célula (*p. ej.*, una célula T) modificada para expresar un CAR, en donde la célula CAR T ("CART") exhibe una propiedad antitumoral. En un aspecto, una célula se transforma con el CAR y el CAR se expresa en la superficie celular. En algunas realizaciones, la célula (*p. ej.*, célula T) se transduce con un vector viral que codifica un CAR. En algunas realizaciones, el vector es un vector retroviral. En algunas realizaciones, el vector es un vector lentiviral. En algunas realizaciones de este tipo, la célula puede expresar de forma estable el CAR. En otra realización, la célula (*p. ej.*, célula T) se transfecta con un ácido nucleico, *p. ej.*, ARNm, ADNc, ADN que codifica un CAR. En algunas realizaciones de este tipo, la célula puede expresar de forma transitoria el CAR.

En un aspecto, la porción de unión a la proteína anti-CD123 del CAR CD123 es un fragmento de anticuerpo scFv. En un aspecto, tales fragmentos de anticuerpos son funcionales, debido a que retienen la afinidad de unión equivalente, *p. ej.*, se unen al mismo antígeno con una eficacia equiparable a la del anticuerpo IgG del que se deriva. En un aspecto, tales fragmentos de anticuerpo son funcionales en el sentido de que proporcionan una respuesta biológica que puede incluir, sin carácter limitante, activación de una respuesta inmunitaria, inhibición del origen de la transducción de señales de su antígeno diana, inhibición de la actividad cinasa y similares, como entenderá un experto.

En un aspecto, el dominio de unión al antígeno CD123 del CAR es un fragmento de anticuerpo scFv murino. En otro aspecto, el dominio de unión al antígeno CD128 del CAR es un fragmento de anticuerpo scFv que se humaniza en comparación con la secuencia murina del scFv del que se deriva. En un aspecto, el scFv para la secuencia murina comprende SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 101. La humanización de este scFv de ratón puede ser deseable para el entorno clínico, en que los residuos específicos para ratón pueden inducir una respuesta del antígeno anti-ratón humano. (HAMA) en pacientes que reciben tratamiento con CD123, *p. ej.*, tratamiento con células T transducidas con la construcción CD123.

En un aspecto, la porción del dominio de unión anti-CD123 de un CAR es codificada por un transgén, cuya secuencia ha sido optimizada en codones para la expresión en una célula de mamífero. En un aspecto, toda la construcción CAR de la invención está codificada por un transgén cuya secuencia completa ha experimentado optimización de codones para la expresión en una célula de mamífero. La optimización en codones se refiere al descubrimiento de que la frecuencia de aparición de codones sinónimos (*es decir*, codones que codifican el mismo aminoácido) en el

ADN codificante presenta un sesgo en diferentes especies. Una degeneración de codones de este tipo permite que un polipéptido idéntico esté codificado por diversas secuencias de nucleótidos. Se conoce en la técnica una diversidad de métodos de optimización en codones, e incluyen, p. ej., métodos descritos en al menos las Patentes de EE.UU. Números 5.786.464 y 6.114.148.

5 En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 de un CAR es un dominio de unión anti-CD123 humanizado. Por ejemplo, en una realización, el dominio de unión anti-CD123 comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 36. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 humanizado comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 42. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 humanizado comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 48. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 humanizado comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 54. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 humanizado comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 60. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 humanizado comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 66. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 humanizado comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 72. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 humanizado comprende la porción scFv proporcionada en SEQ ID NO: 80.

En un aspecto, un CAR descrito en esta memoria incluye un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo específico con un dominio de señalización intracelular. Por ejemplo, en algunos aspectos, el dominio de señalización intracelular incluye, pero no se limita a módulos de señalización de cadena CD3-zeta, 4-1 BB, CD27 y CD28, y combinaciones de los mismos. En un aspecto, el dominio de unión a antígeno se une a CD123. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 1. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 41. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 47. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 53. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 59. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 65. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 71. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 77. En un aspecto, el CAR comprende la secuencia polipeptídica mostrada en SEQ ID NO: 83.

Además, la presente divulgación proporciona composiciones de CAR anti-CD123 y su uso en células T modificadas mediante ingeniería recombinante (a las que también se alude en esta memoria "células CART 123") para uso en métodos para tratar, entre otras enfermedades, cáncer o cualquier neoplasia o enfermedad autoinmune que implique células o tejidos en los que se expresa CD123.

En otro aspecto, las células CART123 que comprenden un CAR de la invención pueden utilizarse para erradicar células normales que expresan CD123 y pueden ser aplicables para uso como terapia de acondicionamiento celular antes del trasplante celular. En un aspecto, la célula normal que expresa CD123 es una célula madre normal que expresa CD123 y el trasplante de células es un trasplante de células madre. Por ejemplo, en un aspecto, un CAR de la invención se utiliza para la ablación de la médula ósea, p. ej., para eliminar al menos una parte de la médula ósea existente de un sujeto. La ablación de la médula ósea, utilizando un CAR de la invención, se puede realizar, por ejemplo, en un sujeto que necesite un trasplante de médula ósea. Por ejemplo, en determinados casos, el tratamiento de neoplasias hematológicas, tales como AML, se beneficiaría de una terapia combinada que comprenda una terapia contra el cáncer y un trasplante de médula ósea o una terapia de reacondicionamiento. Sin embargo, la presente invención no se limita a la ablación de la médula ósea para tratar el cáncer. Más bien, un CAR de la invención puede utilizarse como un régimen de acondicionamiento celular para la ablación de médula ósea existente antes del trasplante de médula ósea o de células madre para el tratamiento de cualquier enfermedad, trastorno o afección en la que el trasplante de médula ósea sería beneficioso. En un aspecto, un CAR de la invención se usa para la ablación de médula ósea como al menos parte de un tratamiento para una enfermedad que incluye, pero no se limita a un cáncer hematológico, un tumor sólido, una enfermedad hematológica, un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno de almacenamiento lisosómico y una inmunodeficiencia.

En un aspecto, la divulgación proporciona una célula (p. ej., célula T) modificada para expresar un receptor de antígeno quimérico (CAR), en donde la célula CAR T presenta una propiedad antitumoral. Un antígeno preferido es CD123. En un aspecto, el dominio de reconocimiento de antígeno del CAR comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-CD123 completamente humano. Por consiguiente, la divulgación proporciona un CAR anti-CD123 completamente humano modificado en una célula T y métodos para su uso para terapia adoptiva.

En un aspecto, el CAR anti-CD 123 comprende al menos un dominio intracelular seleccionado del grupo de un dominio de señalización de CD137 (4-1BB), un dominio de señalización de CD28, un dominio de señal de CD3zeta, un dominio de señalización de CD27 y cualquier combinación de los mismos. En un aspecto, el CAR anti-CD123 comprende al menos un dominio de señalización intracelular que procede de una o más moléculas coestimuladoras distintas de CD137 (4-1BB) o CD28, un dominio de señal CD3zeta y cualquier combinación de los mismos.

Receptor de Antígeno Quimérico (CAR)

5 La presente divulgación abarca una construcción de ADN recombinante que comprende secuencias de polinucleótidos que codifican un CAR, en donde el CAR comprende un fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD123, p. ej., un fragmento de anticuerpo humano que se une específicamente a CD123. En un aspecto, CD123 es CD123 humano, y la secuencia de ácido nucleico que codifica el fragmento de anticuerpo es contigua y está en el mismo marco de lectura que una secuencia de ácido nucleico que codifica un dominio de señalización intracelular. El dominio de señalización intracelular puede comprender un dominio de señalización coestimulador y/o un dominio de señalización primario, p. ej., una porción de cadena zeta. El dominio de señalización coestimulador se refiere a una parte del CAR que comprende al menos una parte del dominio intracelular de una molécula coestimuladora.

10 En un aspecto, una construcción de ácido nucleico quimérico aislado puede comprender secuencias de un CAR, en donde la secuencia comprende la secuencia de ácido nucleico de un dominio de unión anti-CD123 enlazado operativamente a la secuencia de ácido nucleico de un dominio intracelular. Un dominio intracelular a modo de ejemplo que se puede utilizar en el CAR incluye, pero no se limita al dominio intracelular de CD3-zeta, CD28, 4-1BB y similares. En algunos casos, el CAR puede comprender cualquier combinación de CD3-zeta, CD28, 4-1BB y similares.

15 En aspectos específicos, una construcción CAR de la invención comprende un dominio scFv seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, en donde el scFv puede estar precedido por una secuencia conductora opcional, tal como la proporcionada en SEQ ID NO: 3, y seguida de una secuencia de bisagra opcional tal como la proporcionada en SEQ ID NO: 4, una región transmembrana tal como la proporcionada en SEQ ID NO: 5, un dominio de señalización intracelular que incluye SEQ ID NO: 6 y una secuencia CD3zeta que incluye SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, en donde los dominios son contiguos y están en el mismo marco de lectura para formar una única proteína de fusión. También se incluye en la invención una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de cada uno de los fragmentos scFv seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, y cada uno de los dominios de SEQ ID NOS: 3-7. También se incluye en la invención una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de cada uno de los fragmentos scFv seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, y SEQ ID NO: 78, y cada uno de los dominios de SEQ ID NOS: 3-6 y SEQ ID NO: 98. En un aspecto, la construcción CARCD123 comprende una secuencia conductora opcional, un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a CD123, una bisagra, un dominio transmembrana y un dominio estimulador intracelular. En un aspecto, la construcción CAR CD123 comprende una secuencia conductora opcional, un dominio de unión a antígeno extracelular que se une específicamente a CD123, una bisagra, un dominio transmembrana, un dominio de señalización intracelular que incluye un dominio coestimulador y un dominio estimulador primario. Construcciones de CARCD123 específicas que contienen un dominio scFv humanizado se proporcionan en SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 83. Construcciones de CARCD123 específicas que contienen un dominio scFv murino se proporcionan en SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119 y SEQ ID NO: 121.

30 Se proporciona una secuencia conductora a modo de ejemplo como SEQ ID NO: 3. Se proporciona una secuencia de bisagra/espaciador a modo de ejemplo como SEQ ID NO: 4. Se proporciona una secuencia del dominio transmembrana a modo de ejemplo como SEQ ID NO: 5. Se proporciona una secuencia de un dominio coestimulador a modo de ejemplo 4-1BB como SEQ ID NO: 6. Se proporciona una secuencia de un dominio coestimulador a modo de ejemplo de la proteína CD27 como SEQ ID NO: 23. Se proporciona un dominio de señalización primario a modo de ejemplo de una secuencia del dominio CD3zeta como SEQ ID NO: 7. Otro dominio de señalización primario a modo de ejemplo de una secuencia de dominio CD3zeta se proporciona como SEQ ID NO: 98.

45 En un aspecto, la presente divulgación abarca una construcción de ácido nucleico recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un CAR, en donde la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica un dominio de unión anti-CD 123, p. ej., descrito en esta memoria, que es contiguo a y en el mismo marco de lectura que una secuencia de ácido nucleico que codifica un dominio de señalización intracelular. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 se selecciona de uno o más de SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por una secuencia de nucleótidos proporcionada en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 73 y SEQ ID NO: 79. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por SEQ ID NO: 37. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por SEQ ID NO: 49. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por SEQ ID NO: 55. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por SEQ ID NO: 61. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por SEQ ID NO: 67. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por SEQ ID NO: 73. En un aspecto, el dominio de unión anti-CD123 es codificado por SEQ ID NO: 80.

50 En un aspecto, la presente invención abarca una construcción de ácido nucleico recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un CAR, en donde la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia

55

60

65

de ácido nucleico que codifica un dominio de unión anti-CD 123 seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76 y SEQ ID NO: 82, en donde la secuencia es contigua a y está en el mismo marco de lectura que la secuencia de ácido nucleico que codifica un dominio de señalización intracelular. Un dominio de señalización intracelular a modo de ejemplo que se puede utilizar en el CAR incluye, sin carácter limitante, uno o más dominios de señalización intracelular de, por ejemplo, CD3-zeta, CD28, 4-1BB y similares. En algunos casos, el CAR puede comprender cualquier combinación de dominios de señalización intracelular de CD3-zeta, CD28, 4-1BB y similares. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos comprende la SEQ ID NO: 40. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos de una construcción de CAR es SEQ ID NO: 46. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos comprende la SEQ ID NO: 52. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos comprende la SEQ ID NO: 58. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos comprende la SEQ ID NO: 64. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos comprende la SEQ ID NO: 70. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos comprende la SEQ ID NO: 76. En un aspecto, la construcción de ácidos nucleicos comprende la SEQ ID NO: 82.

Las secuencias de ácido nucleico que codifican las moléculas deseadas se pueden obtener utilizando métodos recombinantes conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, cribando colecciones de células que expresan el gen, obteniendo el gen de un vector que se sabe que los incluye, o aislándolo directamente de células y tejidos que lo contienen, utilizando técnicas estándar. Como alternativa, el ácido nucleico de interés se puede producir por vías sintéticas, en lugar de clonarse.

Construcciones de vectores retrovirales y lentivirales que expresan un CAR pueden transducirse directamente en una célula.

Una construcción de ARN se puede transfectar directamente en una célula. Un método para generar ARNm para uso en la transfección implica la transcripción in vitro (IVT) de un molde con cebadores especialmente diseñados, seguida de la adición de poliA, para producir una construcción que contenga 3' y 5' secuencias no traducidas ("UTR"), una 5' caperuza y/o sitio de entrada al ribosoma interno (IRES), el ácido nucleico que se ha de expresar y una cola de poliA, típicamente de 50-2000 bases de longitud (SEQ ID NO: 133). El ARN así producido puede transfectar eficazmente diferentes tipos de células. En un aspecto, el molde incluye secuencias para el CAR. En una realización, un vector CAR de ARN se transduce en una célula T mediante electroporación.

Dominio de unión a antígeno

En un aspecto, un CAR de la invención comprende un elemento de unión específico para la diana al que se alude de otro modo como un resto de unión a antígeno. La elección del resto depende del tipo y del número de ligandos que definen la superficie de una célula diana. Por ejemplo, el dominio de unión al antígeno se puede elegir para reconocer un ligando que actúa como un marcador de la superficie celular en las células diana asociadas con un estado patológico particular. Por tanto, ejemplos de marcadores de superficie celular que pueden actuar como ligandos para el dominio de unión al antígeno en un CAR de la invención incluyen los asociados con infecciones víricas, bacterianas y parasitarias, enfermedades autoinmunes y células cancerosas.

En un aspecto, la respuesta de células T mediada por CAR se puede dirigir a un antígeno de interés modificando un dominio de unión a antígeno que se une específicamente a un antígeno deseado en el CAR. En el contexto de la presente invención, "antígeno tumoral" o "antígeno de trastorno hiperproliferativo" o "antígeno asociado con un trastorno hiperproliferativo" se refiere a un antígeno que es común a un trastorno hiperproliferativo específico. En determinados aspectos, un antígeno de trastorno hiperproliferativo se deriva de un cáncer, incluyendo, pero no limitados a melanoma primario o metastásico, timoma, linfoma, sarcoma, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, leucemias, cáncer de útero, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de riñón y adenocarcinoma, tal como cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de páncreas y similares.

En un aspecto, el antígeno tumoral comprende uno o más epítomos de cáncer antigénicos reconocidos inmunológicamente por linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) derivados de un tumor canceroso de un mamífero.

En un aspecto, la porción del resto de unión a antígeno de un CAR comprende un dominio de unión a antígeno que fija como objetivo CD123, que incluye, pero no se limita a CD123 humano. Se proporciona una secuencia de ARNm de CD123 humana a modo de ejemplo como N° de acceso M74782 del GenBank. Una secuencia de la proteína CD123 a modo de ejemplo está disponible como UniProtKB N° de acceso P26951. En algunas realizaciones, un dominio de unión a antígeno fija como objetivo un epítopo que se encuentra en el dominio extracelular de CD123, p. ej., un epítopo dentro del dominio extracelular de CD123 humano; p. ej., un epítopo que comprende uno o más residuos de aminoácidos 19-305 del número de acceso de UniProtKB P26951.

El dominio de unión a antígeno puede ser cualquier dominio que se una al antígeno, incluyendo, pero no limitados a un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo sintético, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado y un fragmento funcional del mismo. incluyendo, pero no limitados a un anticuerpo

de dominio único, tal como un dominio variable de la cadena pesada (VH), un dominio variable de la cadena ligera (VL) y un dominio variable (VHH) de nanocuerpo derivado de camélidos, y un armazón alternativo conocido en la técnica para funcionar como dominio de unión a antígeno, tal como un dominio de fibronectina recombinante, y similares. En algunos casos, es beneficioso que el dominio de unión a antígeno se derive de la misma especie en la que se utilizará finalmente el CAR. Por ejemplo, para uso en seres humanos, puede ser beneficioso que el dominio de unión a antígeno del CAR comprenda un anticuerpo humano o un fragmento del mismo. Por lo tanto, en un aspecto, el dominio de unión a antígeno comprende un anticuerpo humano o un fragmento de anticuerpo. En otro aspecto, el dominio de unión a antígeno comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 comprende una o más (p. ej., una, dos o las tres) región determinante de complementariedad 1 de la cadena ligera (LC CDR1), región determinante de complementariedad 2 de la cadena ligera (LC CDR2) y región determinante de complementariedad 3 de la cadena ligera (LC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, y una o más (p. ej., una, dos o las tres) región determinante de complementariedad 1 de la cadena pesada (HC CDR1), región determinante de complementariedad 2 de la cadena pesada (HC CDR2) y región determinante de complementariedad 3 de la cadena pesada (HC CDR3) de un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 comprende una región variable de la cadena ligera descrita en esta memoria y/o una región variable de la cadena pesada descrita en esta memoria. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 es un scFv que comprende una región variable de la cadena ligera y una región variable de cadena pesada de una secuencia de aminoácidos, p. ej., una región variable de la cadena ligera y una región variable de la cadena pesada descritas en esta memoria. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un scFv) comprende: una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera proporcionada en esta memoria, o una secuencia con 85-99% (p. ej., 90-99% o 95-99%) de identidad con una secuencia de aminoácidos proporcionada en esta memoria; y/o una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones (p. ej., sustituciones) pero no más de 30, 20 o 10 modificaciones (p. ej., sustituciones) de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada proporcionada en esta memoria, o una secuencia con 85-99% (p. ej., 90-99% o 95-99%) de identidad con una secuencia de aminoácidos proporcionada en esta memoria. En un aspecto, el dominio de unión a antígeno comprende una o más secuencias seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78. En un aspecto, el CAR humanizado se selecciona de una o más secuencias seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 83.

En algunos aspectos, un anticuerpo no humano o un fragmento del mismo se humaniza, en que las secuencias o regiones específicas del anticuerpo o fragmento del mismo se modifican para aumentar la similitud con un anticuerpo producido de forma natural en un ser humano. En un aspecto, la porción del dominio de unión al antígeno está humanizada.

Se puede producir un anticuerpo humanizado o un fragmento del mismo utilizando una diversidad de técnicas conocidas en la técnica, incluyendo, pero no limitadas a injerto de CDR (véase, p. ej., la Patente Europea N° EP 239,400; la Publicación Internacional WO 91/09967; y las Pat. de EE.UU. N°s. 5.225.539, 5.530.101, y 5.585.089), chapado o revestimiento (véase, p. ej., las Patentes Europeas N°s EP 592,106 and EP 519,596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28(4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, *Protein Engineering*, 7(6):805-814; y Roguska et al., 1994, *PNAS*, 91:969-973), reordenamiento de la cadena (véase, p. ej., la Pat. de EE.UU. N° 5.565.332), y técnicas descritas, p. ej., en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N° US2005/0042664, Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N° US2005/0048617, Pat. de EE.UU. N° 6.407.213, Pat. de EE.UU. N° 5.766.886, Publicación Internacional N° WO 9317105, Tan et al., *J. Immunol.*, 169:1119-25 (2002), Caldas et al., *Protein Eng.*, 13(5):353-60 (2000), Morea et al., *Methods*, 20(3):267-79 (2000), Baca et al., *J. Biol. Chem.*, 272(16):10678-84 (1997), Roguska et al., *Protein Eng.*, 9(10):895-904 (1996), Couto et al., *Cancer Res.*, 55 (23 Sup):5973s-5977s (1995), Couto et al., *Cancer Res.*, 55(8):1717-22 (1995), Sandhu J S, *Gene*, 150(2):409-10 (1994) y Pedersen et al., *J. Mol. Biol.*, 235(3):959-73 (1994). A menudo, los residuos de marco en las regiones de marco se sustituirán con el residuo correspondiente del anticuerpo donante de CDR para alterar, por ejemplo, mejorar la unión a antígeno. Estas sustituciones de marco se identifican por métodos bien conocidos en la técnica, p. ej., modelando las interacciones de la CDR y los residuos de marco para identificar residuos de marco importantes para la unión al antígeno y la comparación secuencial para identificar residuos de marco inusuales en posiciones particulares. (Véase, p. ej, Queen et al., Pat. de EE.UU. N° 5.585.089; y Riechmann et al., 1988, *Nature*, 332:323).

Un anticuerpo humanizado o un fragmento del mismo tiene uno o más residuos de aminoácidos introducidos en él de una fuente que no es humana. A estos residuos aminoacídicos no humanos se les denomina a menudo residuos "importados", que típicamente se toman de un dominio variable "importado". Como se proporciona en esta memoria, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado comprende una o más CDRs de moléculas de inmunoglobulina no humanas y regiones marco en las que los residuos de aminoácidos que comprenden el marco se derivan completa o principalmente de la línea germinal humana. Múltiples técnicas para la humanización de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos son bien conocidas en la técnica y se pueden realizar esencialmente siguiendo el método de Winter y

colaboradores (Jones et al., *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., *Science*, 239:1534-1536 (1988)), sustituyendo las CDRs o secuencias de CDR de roedores con las secuencias correspondientes de un anticuerpo humano, es decir, injerto de CDR (EP 239,400; Publicación PCT N° WO 91/09967; y Pat. de EE.UU. N°s 4.816.567; 6.331.415; 5.225.539; 5.530.101; 5.585.089; 6.548.640). En anticuerpos humanizados de este tipo, sustancialmente menos de un dominio variable humano intacto ha sido sustituido por la secuencia correspondiente de una especie no humana. Los anticuerpos humanizados son a menudo anticuerpos humanos en los que algunos residuos de CDR y posiblemente algunos residuos de marco (FR) son sustituidos por residuos de sitios análogos en anticuerpos de roedores. La humanización de anticuerpos también se puede lograr mediante chapado o revestimiento (EP 592,106; EP 519,596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28(4/5):489-498; Studnicka et al., *Protein Engineering*, 7(6):805-814 (1994); y Roguska et al., *PNAS*, 91:969-973 (1994)) o reordenamiento de la cadena (Pat. de EE.UU. N° 5.565.332).

La elección de dominios variables humanos, tanto ligeros como pesados, que se pueden utilizar en la producción de los anticuerpos humanizados es para reducir la antigenicidad. De acuerdo con el denominado método de "mejor ajuste", la secuencia del dominio variable de un anticuerpo de roedor se criba frente a toda la colección de secuencias conocidas de dominio variable humano. La secuencia humana más cercana a la del roedor se acepta entonces como marco (FR) humano para el anticuerpo humanizado (Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987)). Otro método utiliza un armazón particular derivado de la secuencia consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de cadenas ligeras o pesadas. El mismo marco se puede utilizar para varios anticuerpos humanizados diferentes (Carter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)).

En algunos aspectos, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo se humaniza con retención de alta afinidad por el antígeno diana y otras propiedades biológicas favorables. De acuerdo con un aspecto de la invención, los anticuerpos humanizados o los fragmentos de anticuerpos se preparan mediante un procedimiento de análisis de las secuencias parentales y diversos productos humanizados conceptuales utilizando modelos tridimensionales de las secuencias parentales y humanizadas. Se puede disponer fácilmente de modelos tridimensionales de inmunoglobulina y los expertos en la técnica están familiarizados con ellos. Se puede disponer de programas informáticos que ilustran y presentan estructuras conformacionales tridimensionales probables de secuencias de inmunoglobulinas candidata seleccionadas. La inspección de estas presentaciones permite el análisis de la función probable de los residuos en el funcionamiento de la secuencia de inmunoglobulina candidata, por ejemplo, el análisis de residuos que influyen en la capacidad de la inmunoglobulina candidata para unirse al antígeno diana. De esta manera, residuos de FR pueden seleccionarse y combinarse a partir del receptor y las secuencias de importación de modo que se logre la característica deseada del anticuerpo, tal como una afinidad incrementada por el antígeno diana. En general, los residuos de CDR están directamente y muy sustancialmente implicados en influenciar la unión al antígeno.

Un anticuerpo humanizado o un fragmento del mismo puede conservar una especificidad antigénica similar a la del anticuerpo original, en la presente invención, la capacidad de unirse a CD123 humana. Sin embargo, utilizando determinados métodos de humanización, la afinidad y/o especificidad de unión del anticuerpo o fragmento del mismo por CD123 humano puede incrementarse utilizando métodos de "evolución dirigida", tal como se describe por Wu et al., *J. Mol. Biol.*, 294:151 (1999).

En un aspecto, un resto de unión a antígeno se caracteriza por rasgos o propiedades funcionales particulares de un anticuerpo. Por ejemplo, el resto de unión al antígeno se une específicamente a CD123, que incluye pero no se limita a CD123 humana. En un aspecto, la divulgación se refiere a un resto de unión a antígeno que comprende un anticuerpo o fragmento funcional (p. ej., unión a antígeno) del mismo, en donde el anticuerpo o fragmento funcional del mismo se une específicamente a una proteína CD123 o fragmento de la misma, en donde el anticuerpo o fragmento funcional del mismo es codificada por una secuencia de aminoácidos que comprende SEQ ID NO: 2. En otro aspecto, el resto de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 9.

En un aspecto, un dominio de unión anti-CD123 es un fragmento variable de cadena única (scFv). En otro aspecto, un dominio de unión anti-CD123 es, por ejemplo, un Fv, un Fab o un (Fab)₂, o un anticuerpo híbrido bifuncional (p. ej., biespecífico) (p. ej., Lanzavecchia et al., *Eur. J. Immunol.* 17, 105 (1987)). En un aspecto, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la invención se une a una proteína CD123 con afinidad de tipo salvaje o potenciada. En algunos casos, los scFv se pueden preparar de acuerdo con un método conocido en la técnica (ver, por ejemplo, Bird et al., (1988) *Science* 242:423-426 y Huston et al., (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Las moléculas de ScFv se pueden producir enlazando regiones VH y VL entre sí utilizando conectores polipeptídicos flexibles. Las moléculas de scFv comprenden un enlazador (p. ej., un enlazador de Ser-Gly) con una longitud y/o composición de aminoácidos optimizadas. La longitud del enlazador puede afectar en gran medida la forma en que las regiones variables de un scFv se pliegan e interactúan. De hecho, si se emplea un enlazador de polipéptido corto (p. ej., entre 5-10 aminoácidos, se evita el plegamiento intracadena. También se requiere plegamiento intercatenario para unir las dos regiones variables con el fin de formar un sitio de unión al epítipo funcional. Para ejemplos de orientación del enlazador y tamaño véase, p. ej., Hollinger et al. 1993 *Proc Natl Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-6448, Publicaciones de Solicitudes de Patente de EE.UU. N°s 2005/0100543, 2005/0175606, 2007/0014794 y Publicaciones PCT N°s WO2006/020258 y WO2007/024715.

Un scFv puede comprender un enlazador de al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, o más residuos aminoacídicos entre sus regiones VI y VH. La secuencia de enlazador puede comprender cualquier aminoácido que se produce de forma natural. En algunas realizaciones, la secuencia de enlazador comprende los aminoácidos glicina y serina. En otra realización, la secuencia de enlazador comprende conjuntos de repeticiones de glicina y serina tales como (Gly₄Ser)_n (SEQ ID NO: 35), en que n es un número entero positivo igual a o mayor que 1. En una realización, el enlazador puede ser (Gly₄Ser)₄ (SEQ ID NO: 130) o (Gly₄ Ser)₃ (SEQ ID NO: 131). La variación en la longitud del enlazador puede retener o potenciar la actividad, lo que da lugar a una eficacia superior en estudios de actividad.

En un aspecto, una parte de una composición de CAR de la divulgación que comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo comprende, además, regiones variables de la cadena pesada y ligera que comprenden secuencias de aminoácidos que son homólogas a las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-CD123 descritos en esta memoria, y en donde la porción de unión anti-CD 123 conserva las propiedades funcionales deseadas de los anticuerpos anti-CD 123.

En algunos aspectos, la composición de CAR CD123 de la divulgación comprende, además, uno o más residuos alterados en comparación con las secuencias de V_H y/o V_L descritas en esta memoria, p. ej., secuencias que pueden utilizarse como material de partida para diseñar una porción de fragmento de anticuerpo modificado, cuya porción de unión anti-CD123 modificada puede tener propiedades alteradas en comparación con el anticuerpo de partida. En diversos aspectos, la porción que comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la composición CAR de la divulgación se modifica modificando uno o más aminoácidos dentro de una o ambas regiones variables (p. ej., V_H y/o V_L), por ejemplo dentro de una o más regiones de CDR y/o dentro de una o más regiones de marco. En un aspecto específico, la composición de CAR de la divulgación comprende un fragmento de anticuerpo. En un aspecto adicional, ese fragmento de anticuerpo comprende un scFv.

Estabilidad y Mutaciones

La estabilidad de un dominio de unión anti-CD123, p. ej., moléculas de scFv (p. ej., scFv soluble), puede evaluarse con referencia a las propiedades biofísicas (p. ej., estabilidad térmica) de una molécula scFv de control convencional o un anticuerpo de longitud completa. En una realización, el scFv humanizado tiene una estabilidad térmica que es mayor que aproximadamente 0,1, aproximadamente 0,25, aproximadamente 0,5, aproximadamente 0,75, aproximadamente 1, aproximadamente 1,25, aproximadamente 1,5, aproximadamente 1,75, aproximadamente 2, aproximadamente 2,5, aproximadamente 3, aproximadamente 3,5, aproximadamente 4, aproximadamente 4,5, aproximadamente 5, aproximadamente 5,5, aproximadamente 6, aproximadamente 6,5, aproximadamente 7, aproximadamente 7,5, aproximadamente 8, aproximadamente 8,5, aproximadamente 9, aproximadamente 9,5, aproximadamente 10 grados, aproximadamente 11 grados, aproximadamente 12 grados, aproximadamente 13 grados, aproximadamente 14 grados o aproximadamente 15 grados Celsius que una molécula de unión control (p. ej., una molécula scFv convencional) en los ensayos descritos.

La estabilidad térmica mejorada del dominio de unión anti-CD 123, p. ej., scFv, se confiere posteriormente a la construcción CAR CD123 completa, lo que conduce a propiedades terapéuticas mejoradas de la construcción CAR CD123. La estabilidad térmica del dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, se puede mejorar en al menos aproximadamente 2°C o 3°C en comparación con un anticuerpo convencional. En una realización, el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, tiene una estabilidad térmica mejorada de 1°C en comparación con un anticuerpo convencional. En otra realización, el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, tiene una estabilidad térmica mejorada de 2°C en comparación con un anticuerpo convencional. En otra realización, el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, tiene una estabilidad térmica mejorada de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15°C en comparación con un anticuerpo convencional. Se pueden hacer comparaciones, por ejemplo, entre las moléculas de scFv descritas en esta memoria y las moléculas scFv o fragmentos Fab de un anticuerpo del que se derivaron las VH y VL de scFv. La estabilidad térmica se puede medir utilizando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, en una realización, se puede medir la T_m. Más adelante se describen en más detalle métodos para medir la T_f y otros métodos para determinar la estabilidad proteica.

Las mutaciones en scFv (que surgen a través de la humanización o mutagénesis directa del scFv soluble) alteran la estabilidad del scFv y mejoran la estabilidad global del scFv y la construcción CAR CD123. La estabilidad del scFv humanizado se compara con el scFv murino utilizando mediciones tales como T_m, desnaturalización por temperatura y agregación por temperatura. La capacidad de unión de los scFv mutantes se puede determinar utilizando los ensayos descritos en los Ejemplos.

En una realización, el dominio de unión anti-CD 123, p. ej., scFv, comprende al menos una mutación que surge del proceso de humanización de manera que el scFv mutado confiere una estabilidad mejorada a la construcción CD123. En otra realización, el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mutaciones que surgen del proceso de humanización de manera que el scFv mutado confiere una estabilidad mejorada a la construcción CD123.

Métodos de Evaluación de la Estabilidad de la Proteína

La estabilidad de un dominio de unión a antígeno se puede evaluar utilizando, por ejemplo, los métodos descritos más adelante. Estos métodos permiten la determinación de múltiples transiciones de despliegue térmico, en que el dominio menos estable se despliega primero o limita el umbral de estabilidad global de una unidad multi-dominio que se despliega cooperativamente (p. ej., una proteína multi-dominio que exhibe una única transición de despliegue). El dominio menos estable se puede identificar de varias maneras adicionales. La mutagénesis se puede realizar para estudiar qué dominio limita la estabilidad global. Adicionalmente, la resistencia a la proteasa de una proteína multidominio se puede realizar bajo condiciones en las que se sabe que el dominio menos estable se desarrolla intrínsecamente mediante DSC u otros métodos espectroscópicos (Fontana, et al., (1997) *Fold. Des.*, 2: R17-26; Dimasi et al. (2009) *J. Mol. Biol.* 393: 672-692). Una vez que se identifica el dominio menos estable, la secuencia que codifica este dominio (o una porción de esta) se puede emplear como una secuencia de prueba en los métodos.

a) Estabilidad Térmica

La estabilidad térmica de las composiciones se puede analizar utilizando un cierto número de técnicas biofísicas o bioquímicas no limitantes conocidas en la técnica. En determinadas realizaciones, la estabilidad térmica se evalúa mediante espectroscopía analítica.

Un método de espectroscopía analítica a modo de ejemplo es la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés). DSC emplea un calorímetro que es sensible a las absorbancias de calor que acompañan al despliegue de la mayoría de las proteínas o dominios de proteínas (véase, p. ej., Sanchez-Ruiz, et al., *Biochemistry*, 27: 1648-52, 1988). Para determinar la estabilidad térmica de una proteína, se inserta una muestra de la proteína en el calorímetro y se eleva la temperatura hasta que se despliega el Fab o scFv. La temperatura a la que se despliega la proteína es indicativa de la estabilidad global de la proteína.

Otro método de espectroscopía analítica a modo de ejemplo es la espectroscopía de Dicroísmo Circular (CD). La espectrometría de CD mide la actividad óptica de una composición en función de una temperatura creciente. La espectroscopía de dicroísmo circular (CD) mide las diferencias en la absorción de la luz polarizada a la izquierda frente a la luz polarizada a la derecha que surgen debido a la asimetría estructural. Una estructura desordenada o desplegada da como resultado un espectro de CD muy diferente al de una estructura ordenada o plegada. El espectro de CD refleja la sensibilidad de las proteínas a los efectos desnaturalizantes del aumento de temperatura y, por lo tanto, es indicativo de la estabilidad térmica de una proteína (véase van Mierlo y Steemsma, *J. Biotechnol.*, 79(3):281-98, 2000).

Otro método de espectroscopía analítica a modo de ejemplo para medir la estabilidad térmica es la Espectroscopía de Emisión de Fluorescencia (véase van Mierlo y Steemsma, mencionado anteriormente). Otro método más de espectroscopía analítica a modo de ejemplo para medir la estabilidad térmica es la espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) (véase, p. ej., van Mierlo y Steemsma, mencionado anteriormente).

La estabilidad térmica de una composición se puede medir por medios bioquímicos. Un método bioquímico a modo de ejemplo para evaluar la estabilidad térmica es un ensayo de exposición térmica. En un "ensayo de exposición térmica", se somete una composición a un intervalo de temperaturas elevadas durante un período de tiempo establecido. Por ejemplo, en una realización, las moléculas de scFv de prueba o las moléculas que comprenden moléculas de scFv se someten a un intervalo de temperaturas crecientes, p. ej., durante 1-1,5 horas. La actividad de la proteína se somete a ensayo a continuación con un ensayo bioquímico relevante. Por ejemplo, si la proteína es una proteína de unión (por ejemplo, un scFv o un polipéptido que contiene scFv), la actividad de unión de la proteína de unión se puede determinar mediante un ELISA funcional o cuantitativo.

Un ensayo de este tipo puede realizarse en un formato de alto rendimiento y los descritos en los Ejemplos utilizando *E. coli* y cribado de alto rendimiento. Puede crearse una colección de variantes de dominio de unión anti-CD 123, p. ej., scFv, utilizando métodos conocidos en la técnica. El dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, puede inducirse la expresión y el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, puede someterse a exposición térmica. Las muestras de ensayo estimuladas se pueden ensayar para determinar la unión y esos dominios de unión anti-CD123, p. e., scFv, que son estables, se pueden aumentar y caracterizar adicionalmente.

La estabilidad térmica se evalúa midiendo la temperatura de fusión (Tf) de una composición utilizando cualquiera de las técnicas anteriores (por ejemplo, técnicas de espectroscopía analítica). La temperatura de fusión es la temperatura en el punto medio de una curva de transición térmica en la que el 50% de las moléculas de una composición están en un estado plegado (véase, p. ej., Dimasi et al. (2009) *J. Mol. Biol.* 393: 672-692). En una realización, los valores de Tm para un dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, son aproximadamente 40°C, 41 °C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C. En una realización, los valores de Tm para una IgG son aproximadamente 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C,

67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C. En una realización, los valores de Tm para un anticuerpo multivalente son aproximadamente 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C.

La estabilidad térmica también se evalúa midiendo el calor específico o la capacidad calorífica (Cp) de una composición utilizando una técnica calorimétrica analítica (por ejemplo, DSC). El calor específico de una composición es la energía (por ejemplo, en kcal/mol) que se requiere para aumentar en 1 °C la temperatura de 1 mol de agua. Como Cp grande es un rasgo característico de una composición proteica desnaturalizada o inactiva. El cambio en la capacidad calorífica (ΔC_p) de una composición se mide determinando el calor específico de una composición antes y después de su transición térmica. La estabilidad térmica también se puede evaluar midiendo o determinando otros parámetros de estabilidad termodinámica, incluida la energía libre de Gibbs de desplegamiento (ΔG), la entalpía de desplegamiento (ΔH) o la entropía de desplegamiento (ΔS). Se utilizan uno o más de los ensayos bioquímicos anteriores (p. ej., un ensayo de estimulación térmica) para determinar la temperatura (p. ej., el valor de Tc) a la que el 50% de la composición retiene su actividad (p. ej., actividad de unión).

Además, las mutaciones en el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, alteran la estabilidad térmica del dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, en comparación con el dominio de unión anti-CD123 no mutado, p. ej., scFv. Cuando el dominio de unión anti-CD123 humanizado, p. ej., scFv, se incorpora en una construcción de CAR anti-CD123, el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv humanizado confiere estabilidad térmica a la construcción de CAR anti-CD123 global. En una realización, el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, comprende una única mutación que confiere estabilidad térmica al dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv. En otra realización, el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, comprende múltiples mutaciones que confieren estabilidad térmica al dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv. En una realización, las múltiples mutaciones en el dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, tienen un efecto aditivo sobre la estabilidad térmica del dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv.

b) % de Agregación

La estabilidad de una composición se puede determinar midiendo su propensión a agregarse. La agregación se puede medir mediante un número de técnicas bioquímicas o biofísicas no limitantes. Por ejemplo, la agregación de una composición se puede evaluar utilizando cromatografía, por ejemplo, cromatografía de exclusión por tamaño (SEC, por sus siglas en inglés). La SEC separa moléculas en función del tamaño. Una columna se llena con perlas semisólidas de un gel polimérico que admitirá iones y moléculas pequeñas en su interior, pero no grandes. Cuando se aplica una composición de proteína a la parte superior de la columna, las proteínas plegadas compactas (p. ej., proteínas no agregadas) se distribuyen a través de un volumen de disolvente mayor que el disponible para los agregados de proteínas grandes. Por consiguiente, los agregados grandes se mueven con mayor rapidez a través de la columna, y de esta manera la mezcla se puede separar o fraccionar en sus componentes. Cada una de las fracciones se puede cuantificar por separado (por ejemplo, mediante dispersión de la luz) a medida que se eluye del gel. Por consiguiente, el % de agregación de una composición se puede determinar comparando la concentración de una fracción con la concentración total de proteína aplicada al gel. Las composiciones estables eluyen de la columna como esencialmente una fracción única y aparecen esencialmente como un pico único en el perfil de elución o cromatograma.

c) Afinidad de Unión

La estabilidad de una composición se puede evaluar determinando su afinidad de unión por la diana. En la técnica existe constancia de una amplia diversidad de métodos para determinar la afinidad de unión. Un método a modo de ejemplo para determinar la afinidad de unión emplea resonancia por plasmones superficiales. La resonancia por plasmones superficiales es un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecíficas en tiempo real mediante la detección de alteraciones en las concentraciones de proteínas dentro de una matriz de biosensores, por ejemplo, utilizando el sistema BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia y Piscataway, N.J.). Para descripciones adicionales, véase Jonsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26; Jonsson, U., i (1991) Biotechniques 11:620-627; Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131; y Johnsson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277.

En un aspecto, el dominio de unión al antígeno del CAR comprende una secuencia de aminoácidos que es homóloga a una secuencia de aminoácidos del dominio de unión a antígeno descrita en esta memoria, y el dominio de unión a antígeno conserva las propiedades funcionales deseadas de los fragmentos de anticuerpo anti-CD123 descritos en esta memoria. En un aspecto específico, la composición de CAR de la divulgación comprende un fragmento de anticuerpo. En un aspecto adicional, ese fragmento de anticuerpo comprende un scFv.

En diversos aspectos, el dominio de unión al antígeno del CAR se altera modificando uno o más aminoácidos dentro de una o ambas regiones variables (por ejemplo, VH y/o VL), por ejemplo, dentro de una o más regiones CDR y/o

dentro de una o más regiones marco. En un aspecto específico, la composición de CAR de la divulgación comprende un fragmento de anticuerpo. En un aspecto adicional, ese fragmento de anticuerpo comprende un scFv.

Un experto ordinario en la técnica entenderá que el anticuerpo o fragmento de anticuerpo puede modificarse adicionalmente de manera que varíen en la secuencia de aminoácidos (p. ej., de tipo salvaje), pero no en la actividad deseada. Por ejemplo, se pueden realizar sustituciones adicionales de nucleótidos en la proteína que dan lugar a sustituciones de aminoácidos en residuos aminoacídicos «no esenciales». Por ejemplo, un residuo de aminoácido no esencial en una molécula puede ser reemplazado por otro residuo de aminoácido de la misma familia de la cadena lateral. En otra realización, una cadena de aminoácidos se puede reemplazar por una cadena estructuralmente similar que difiere en orden y/o composición de los miembros de la familia de la cadena lateral, p. ej., puede realizarse una sustitución conservadora, en la que un residuo aminoácido se reemplaza por un residuo aminoácido que tiene una cadena lateral similar.

En la técnica se han definido las familias de residuos aminoacídicos que tienen cadenas laterales similares, que incluyen las cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales con ramificaciones en la posición beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina).

El porcentaje de identidad en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas, se refiere a dos o más secuencias que son iguales. Dos secuencias son «sustancialmente idénticas» si las dos secuencias tienen un porcentaje especificado de residuos aminoacídicos o nucleotídicos que son iguales (por ejemplo, una identidad de un 60%, opcionalmente una identidad de un 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% a lo largo de una región especificada o, cuando no se especifique, a lo largo de toda la secuencia), cuando se comparan y se alinean para conseguir una correspondencia máxima en una ventana de comparación, o región designada según se mide utilizando uno de los algoritmos de comparación de secuencias siguientes o por alineamiento manual e inspección visual. Opcionalmente, la identidad existe a lo largo de una región que tiene una longitud de al menos aproximadamente 50 nucleótidos (o 10 aminoácidos), o más preferentemente a lo largo de una región que tiene una longitud de 100 a 500 o 1000 o más nucleótidos (o 20, 50, 200 o más aminoácidos).

Para la comparación de secuencias, habitualmente una secuencia actúa como secuencia de referencia respecto a la cual se comparan las secuencias de prueba. Cuando se utiliza un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se introducen en una computadora, se designan coordenadas de subsecuencia, si es necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencia. Se pueden usar los parámetros predeterminados del programa o se pueden designar parámetros alternativos. Después el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de las secuencias para las secuencias de prueba con respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa. Métodos de alineamiento de secuencias para comparación son bien conocidos en la técnica. El alineamiento óptimo de secuencias para comparación puede realizarse, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, (1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482c, mediante el algoritmo de alineamiento por homología de Needleman y Wunsch, (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, mediante el método de búsqueda de similitudes de Pearson y Lipman, (1988) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante alineamiento manual e inspección visual (véase, p. ej., Brent et al., (2003) *Current Protocols in Molecular Biology*).

Dos ejemplos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul et al., (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402; y Altschul et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410, respectivamente. El software para realizar análisis BLAST está disponible públicamente a través del Centro Nacional de Información Biotecnológica.

El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos también se puede determinar usando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller, (1988) *Comput. Appl. Biosci.* 4:11-17) que se ha incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de espacio de 12 y una penalización de espacio de 4. Además, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos puede determinarse utilizando el algoritmo de Needleman y Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48: 444-453) que se ha incorporado al programa GAP en el paquete de software GCG (disponible en www.gcg.com), utilizando una matriz Blossom 62 o una matriz PAM250, y un peso de hueco de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6.

En un aspecto, la presente divulgación contempla modificaciones de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo o fragmento (por ejemplo, scFv) de partida que generan moléculas equivalentes desde un punto de vista funcional. Por ejemplo, la VH o VL de un dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv, comprendido en el CAR puede modificarse para retener al menos aproximadamente 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% identidad de la región

marco VH o VL de partida del dominio de unión anti-CD123, p. ej., scFv. La presente divulgación contiene modificaciones de la construcción de CAR completa, p. ej., modificaciones en una o más secuencias de aminoácidos de los diversos dominios de la construcción de CAR con el fin de generar moléculas funcionalmente equivalentes. La construcción de CAR se puede modificar para mantener una identidad de al menos aproximadamente un 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de la construcción de CAR de partida.

Dominio transmembrana

10 Con respecto al dominio transmembrana, en diversas realizaciones, un CAR se puede diseñar para que comprenda un dominio transmembrana que esté unido al dominio extracelular del CAR. Un dominio transmembrana puede incluir uno o más aminoácidos adicionales adyacentes a la región de transmembrana, por ejemplo, uno o más aminoácidos asociados con la región extracelular de la proteína de la que procede el dominio transmembrana (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hasta 15 aminoácidos de la región extracelular) y/o uno o más aminoácidos adicionales asociados con la región intracelular de la proteína de la cual procede la proteína transmembrana (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hasta 15 aminoácidos de la región intracelular). En un aspecto, el dominio transmembrana es uno que está asociado con uno de los otros dominios del CAR que se utiliza. En algunos casos, el dominio transmembrana se puede seleccionar o modificar por sustitución de aminoácidos para evitar la unión de dichos dominios a los dominios transmembrana de las mismas o diferentes proteínas de la membrana superficial, por ejemplo, para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor. En un aspecto, el dominio transmembrana es capaz de homodimerizarse con otro CAR en la superficie de la célula CART. En un aspecto diferente, la secuencia de aminoácidos del dominio transmembrana puede modificarse o sustituirse con el fin de minimizar las interacciones con los dominios de unión del participante en la unión nativo presente en la misma CART.

25 El dominio transmembrana puede proceder de una fuente natural o recombinante. Cuando la fuente es natural, el dominio puede derivarse de cualquier proteína unida a la membrana o transmembrana. Una región de transmembrana de uso particular en esta invención puede incluir al menos la o las regiones de transmembrana de, p. ej., la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154. En algunos casos, el dominio transmembrana se puede unir a la región extracelular del CAR, por ejemplo, el dominio de unión al antígeno del CAR, a través de una bisagra, por ejemplo, una bisagra de una proteína humana. Por ejemplo, en una realización, la bisagra puede ser una bisagra de Ig (inmunoglobulina) humana, por ejemplo, una bisagra de IgG4 o una bisagra de CD8a. En una realización, la bisagra o el espaciador comprende (por ejemplo, está constituido por) la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En un aspecto, el dominio transmembrana comprende (por ejemplo, está constituido por) un dominio transmembrana de la SEQ ID NO: 5 o 12.

En un aspecto, la bisagra o el espaciador comprende una bisagra de IgG4. Por ejemplo, en una realización, la bisagra o el espaciador comprende una bisagra de la secuencia de aminoácidos
 ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWDVVSQEDPEVQ
 40 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
 SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGKM (SEQ ID
 NO:104). En algunas realizaciones, la bisagra o el espaciador comprende una bisagra codificada por una secuencia de nucleótidos de

45

50

55

60

65

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCCCGAGTTCCTGGG
 CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC
 5 AGCCGGACCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGAGGACC
 CCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAA
 GACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTG
 10 CTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGG
 TGCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
 AGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGA
 15 GATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC
 AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTAC
 AAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCC
 20 GGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTC
 CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTG
 TCCCTGGGCAAGATG (SEQ ID NO:105).

25 En un aspecto, la bisagra o el espaciador comprende una bisagra de IgD. Por ejemplo, en una realización, la bisagra
 o el espaciador comprende una bisagra de la secuencia de aminoácidos
 RWPESPKAQASSVPTAQQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQE
 ERETKTPECPSHOTPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEV
 30 AGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRL
 MALREPAQAQPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLEDQREV
 NTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCWSHEDSRTLLNASR SLEVSyvTDH (SEQ ID NO:122).

En algunas realizaciones, la bisagra o el espaciador comprende una bisagra codificada por una secuencia de
 nucleótidos de

35 AAGTGGCCCCGAAAGTCCCAAGGCCAGGCATCTAGTGTTCCCTACTGCACAGC
 CCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACGCG
 CAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAG
 40 AACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGC
 CGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGAT
 AAGGCCACCTTTACATGTTTCGTGCTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCATTT
 45 GACTTGGGAGGTTGCCGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTT
 GCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCCCTT
 50 CCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTCTAAATCATCC
 TAGCCTGCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCAGGCA
 CCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCG
 55 CCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCCCAACATCTTGCTC
 ATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCC
 GGCCCCACCCAGCCGGTCTACCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAG
 60 GGTCCCAGCACCACTAGCCCCAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCC
 ATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCTTA
 CGTGACTGACCATT (SEQ ID NO:123).

En un aspecto, el dominio transmembrana puede ser recombinante, en cuyo caso comprenderá predominantemente residuos hidrófobos, tales como leucina y valina. En un aspecto, puede encontrarse un triplete de fenilalanina, triptófano y valina en cada uno de los extremos de un dominio transmembrana recombinante.

5 Opcionalmente, un enlazador oligopéptido o polipéptido corto, p. ej., entre 2 y 10 aminoácidos de longitud, puede formar el enlace entre el dominio transmembrana y la región citoplasmática del CAR. Una glicina-serina es un ejemplo de un enlazador adecuado. Por ejemplo, en un aspecto, el conector comprende la secuencia de aminoácidos de GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:124). En algunas realizaciones, el enlazador está codificado por una secuencia de nucleótidos de GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC (SEQ ID NO:125).

10

Dominio citoplasmático

15 El dominio o región citoplasmático del CAR incluye un dominio de señalización intracelular. Un dominio de señalización intracelular es generalmente responsable de la activación de al menos una de las funciones efectoras normales de la célula inmune en la que ha sido introducido el CAR. La expresión "función efectora" se refiere a una función especializada de una célula. La función efectora de un linfocito T, por ejemplo, puede ser actividad citolítica o actividad auxiliar, incluida la secreción de citocinas. Por lo tanto, la expresión "dominio de señalización intracelular" o alternativamente "dominio de señalización citoplasmático" se refiere a la parte de una proteína que transduce la señal de la función efectora y dirige a la célula para que realice una función especializada. Aunque generalmente se puede emplear todo el dominio de señalización intracelular, en muchos casos no es necesario utilizar la cadena completa. En la medida en que se utilice una porción truncada del dominio de señalización intracelular, dicha porción truncada se puede utilizar en lugar de la cadena intacta, siempre que transduzca la señal de la función efectora. Se pretende, por tanto, que la expresión dominio de señalización intracelular incluya cualquier porción truncada del dominio de señalización intracelular suficiente para transducir la señal de función efectora.

25

Ejemplos de dominios de señalización intracelulares para uso en el CAR de la invención incluyen las secuencias citoplasmáticas del receptor de células T (TCR) y co-receptores que actúan concertados para iniciar la transducción de señales después de la activación del receptor del antígeno, así como cualquier derivado o variante de estas secuencias y cualquier secuencia recombinante que tenga la misma capacidad funcional.

30

Se sabe que las señales generadas a través del TCR solo son insuficientes para la activación completa de la célula T y que también se requiere una señal secundaria o coestimuladora. Por lo tanto, se puede decir que la activación de las células T es mediada por dos clases distintas de secuencia de señalización citoplasmática: las que inician la activación primaria dependiente del antígeno a través del TCR (dominio de señalización intracelular primario) y las que actúan de manera independiente del antígeno para proporcionar una señal secundaria o coestimuladora (dominio de señalización citoplasmático secundario, p. ej., un dominio coestimulador).

35

Un dominio de señalización primaria regula la activación primaria del complejo TCR, ya sea de manera estimuladora o inhibidora. Los dominios de señalización intracelular primaria que actúan de manera estimuladora pueden contener motivos de señalización que se conocen como motivos de activación basados en tirosina de inmunorreceptores o ITAM.

40

45 Ejemplos de ITAM que contienen dominios de señalización intracelular primarios que son de uso particular en la invención incluyen los de TCR zeta, FcR gamma, FcR beta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b, y CD66d. En una realización, el CAR se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 83, comprende un dominio de señalización intracelular, p. ej., un dominio de señalización primario, de CD3-zeta. En una realización, un dominio de señalización primaria comprende un dominio ITAM modificado, por ejemplo, un dominio ITAM mutado que tiene una actividad alterada (por ejemplo, incrementada o disminuida) en comparación con el dominio ITAM nativo. En una realización, un dominio de señalización primaria comprende un dominio de señalización intracelular primaria que contiene ITAM modificado, por ejemplo, un dominio de señalización intracelular primaria que contiene ITAM optimizado y/o truncado. En una realización, un dominio de señalización primaria comprende uno, dos, tres, cuatro o más motivos ITAM.

50

55 El dominio de señalización intracelular del CAR puede comprender el dominio de señalización CD3-zeta por sí mismo o puede combinarse con cualquier otro dominio o dominios de señalización intracelular deseados útiles en el contexto de un CAR de la invención. Por ejemplo, el dominio de señalización intracelular del CAR puede comprender una porción de cadena CD3-zeta y un dominio de señalización co-estimulante. El dominio de señalización coestimulador se refiere a una porción del CAR que comprende el dominio intracelular de una molécula 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 eficaz de linfocitos frente a un antígeno. Ejemplos de moléculas de este tipo incluyen CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno asociado a la función linfocítica-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, y un ligando que se une específicamente con CD83, y similares. Por ejemplo, se ha demostrado que la co-estimulación de CD27 potencia la expansión, la función efectora y la supervivencia de células

60

CART humanas in vitro y aumenta la persistencia de las células T humanas y la actividad antitumoral in vivo (Song et al. Blood. 2012; 119(3):696-706).

Las secuencias de señalización intracelular dentro de la porción citoplásmica de un CAR de la invención se pueden unir entre sí en un orden aleatorio o especificado. Opcionalmente, un enlazador oligopéptido o polipéptido corto, por ejemplo, entre 2 y 10 aminoácidos (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos) de longitud puede formar el enlace entre secuencias de señalización. En una realización, se puede utilizar un doblete de glicina-serina como un conector adecuado. En una realización, se puede utilizar un único aminoácido, por ejemplo, una alanina, una glicina, como un conector adecuado.

En un aspecto, el dominio de señalización intracelular está diseñado para comprender dos o más, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más, dominios de señalización coestimuladores. En una realización, los dos o más, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más dominios de señalización coestimuladores, están separados por una molécula conectora, por ejemplo, una molécula conectora descrita en la presente. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende dos dominios de señalización coestimuladores. En algunas realizaciones, la molécula conectora es un residuo de glicina. En algunas realizaciones, el conector es un residuo de alanina.

En un aspecto, el dominio de señalización intracelular está diseñado para comprender el dominio de señalización de CD3-zeta y el dominio de señalización de CD28. En un aspecto, el dominio de señalización intracelular está diseñado para comprender el dominio de señalización de CD3-zeta y el dominio de señalización de 4-1BB. En un aspecto, el dominio de señalización de CD3-zeta es un dominio de señalización de la SEQ ID NO: 7 o 14. En un aspecto, el dominio de señalización de 4-1BB es un dominio de señalización de la SEQ ID NO: 6 o 13.

En un aspecto, el dominio de señalización intracelular está diseñado para comprender el dominio de señalización de CD3-zeta y el dominio de señalización de CD27. En un aspecto, el dominio de señalización de CD27 comprende una secuencia de aminoácidos de QRRKYRSNKGESVPEAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (SEQ ID NO: 23). En un aspecto, el dominio de señalización de CD27 está codificado por una secuencia de ácido nucleico de

AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCC
 GCCGCCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGA
 CTTCGCAGCCTATCGCTCC (SEQ ID NO:27).

En un aspecto, una célula que expresa CAR descrita en esta memoria puede comprender, además, un segundo CAR, p. ej., un segundo CAR que incluye un dominio de unión a antígeno diferente, p. ej., a la misma diana (CD123) o una diana diferente, p. ej., CD19.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una población de células que expresan CAR, p. ej., células CART. La población de células que expresan CAR puede comprender una mezcla de células que expresan diferentes CARs. Por ejemplo, la población de células CART puede incluir una primera célula que expresa un CAR que tiene un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, y una segunda célula que expresa un CAR que tiene un dominio de unión anti-CD123 diferente, p. ej., un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria que difiere del dominio de unión anti-CD123 en el CAR expresado por la primera célula. Como otro ejemplo, la población de células que expresan CAR puede incluir una primera célula que expresa un CAR que incluye un dominio de unión anti-CD123, p. ej., tal como se describe en esta memoria, y una segunda célula que expresa un CAR que incluye un dominio de unión de antígeno a una diana, distinto de CD123, p. ej., un dominio de unión de antígeno a una diana expresada en una célula cancerosa o una diana expresada en tejido normal. La población de células que expresan CAR puede incluir, p. ej., una primera célula que expresa un CAR que incluye un dominio de señalización intracelular primario y una segunda célula que expresa un CAR que incluye un dominio de señalización secundario.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una población de células, en donde al menos una célula de la población expresa un CAR que tiene un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, y una segunda célula que expresa otro agente, p. ej., un agente que potencia la actividad de una célula que expresa CAR. Por ejemplo, en una realización, el agente es un agente que inhibe una molécula inhibidora. Las moléculas inhibidoras, p. ej., PD1, pueden, en algunas realizaciones, disminuir la capacidad de una célula que expresa CAR de organizar una respuesta efectora inmunitaria. Ejemplos de moléculas inhibidoras incluyen PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y TGFR beta. El agente que potencia la actividad de una célula que expresa CAR puede ser, p. ej., una proteína de fusión que comprende un primer dominio y un segundo dominio, en donde el primer dominio es una molécula inhibidora, o fragmento de la misma, y el segundo dominio es un polipéptido que está asociado con una señal positiva, p. ej., el polipéptido que está asociado con una señal positiva es CD28, ICOS y sus fragmentos, p. ej., un dominio de señalización intracelular de CD28 y/o ICOS. En una realización, la proteína de fusión es expresada por la misma célula que expresó el CAR. En otra realización, la proteína de fusión es expresada por una célula, p. ej., una célula T que no expresa un CAR anti-CD123.

Transfección con ARN

En esta memoria se divulgan métodos para producir un ARN de CAR transcrito *in vitro*. Por ejemplo, una construcción de ARN que codifica CAR se puede transfectar directamente en una célula. Un método para generar ARNm para su uso en la transfección puede implicar la transcripción *in vitro* (IVT) de un molde con cebadores especialmente diseñados, seguido de la adición de políA, para producir una construcción que contiene la secuencia no traducida 3' y 5' ("UTR"), un remate 5' y/o un Sitio Interno de Entrada al Ribosoma (IRES), el ácido nucleico que se ha de expresar y una cola de políA, típicamente de 50-2000 bases de longitud (SEQ ID NO: 133). El ARN así producido puede transfectar eficazmente diferentes tipos de células. En un aspecto, el molde incluye secuencias para el CAR.

En un aspecto, el CAR CD123 está codificado por un ARN mensajero (ARNm). En un aspecto, el ARNm que codifica el CAR CD123 se introduce en un linfocito T para la producción de un linfocito CART.

En una realización, el ARN de CAR transcrito *in vitro* se puede introducir en una célula como una forma de transfección transitoria. El ARN se produce por transcripción *in vitro* utilizando un molde generado por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El ADN de interés de cualquier fuente puede convertirse directamente por PCR en un molde para la síntesis de ARNm *in vitro* utilizando cebadores apropiados y ARN polimerasa. La fuente del ADN puede ser, por ejemplo, ADN genómico, ADN plasmídico, ADN de fago, ADNc, secuencia de ADN sintético o cualquier otra fuente apropiada de ADN. El molde deseado para la transcripción *in vitro* es un CAR de la presente invención. Por ejemplo, el molde para el ARN de CAR comprende una región extracelular que comprende un dominio variable monocatenario de un anticuerpo antitumoral; una región de bisagra, un dominio transmembrana (por ejemplo, un dominio transmembrana de CD8a); y una región citoplasmática que incluye un dominio de señalización intracelular, por ejemplo, que comprende el dominio de señalización de CD3-zeta y el dominio de señalización de 4-1BB.

En una realización, el ADN que se va a utilizar para la PCR contiene un marco de lectura abierto. El ADN puede ser de una secuencia de ADN de origen natural procedente del genoma de un organismo. En una realización, el ácido nucleico puede incluir algunas o todas las regiones 5' y/o 3' no traducidas (UTR). El ácido nucleico puede incluir exones e intrones. En una realización, el ADN que se va a utilizar para la PCR es una secuencia de ácido nucleico humano. En otra realización, el ADN que se va a utilizar para la PCR es una secuencia de ácido nucleico humano que incluye las UTR 5' y 3'. Como alternativa, el ADN puede ser una secuencia de ADN artificial que normalmente no se expresa en un organismo de origen natural. Una secuencia de ADN artificial a modo de ejemplo es aquella que contiene porciones de genes que están ligadas para formar un marco de lectura abierto que codifica una proteína de fusión. Las porciones de ADN que están ligadas entre sí pueden proceder de un solo organismo o de más de un organismo.

La PCR se utiliza para generar un molde para la transcripción *in vitro* de ARNm que se utiliza para la transfección. Métodos para realizar la PCR son muy conocidos en la técnica. Los cebadores para uso en la PCR están diseñados para tener regiones que son sustancialmente complementarias a las regiones del ADN que se van a utilizar como un molde para la PCR. La expresión «sustancialmente complementarias», tal como se utiliza en la presente, se refiere a secuencias de nucleótidos en las que una mayoría o todas las bases en la secuencia del cebador son complementarias, o una o más bases no son complementarias o están emparejadas de manera errónea. Las secuencias sustancialmente complementarias son capaces de asociarse o hibridarse con la diana de ADN objetivo en las condiciones de hibridación utilizadas para la PCR. Los cebadores se pueden diseñar para ser sustancialmente complementarios a cualquier porción del molde de ADN. Por ejemplo, los cebadores se pueden diseñar para amplificar la porción de un ácido nucleico que normalmente se transcribe en las células (el marco de lectura abierto), incluidas las UTR 5' y 3'. Los cebadores también se pueden diseñar para amplificar una porción de un ácido nucleico que codifica un dominio particular de interés. En una realización, los cebadores están diseñados para amplificar la región codificante de un ADNc humano, que incluye la totalidad o porciones de las UTR 5' y 3'. Se pueden generar cebadores útiles para la PCR mediante métodos sintéticos muy conocidos en la técnica. Los «cebadores directos» son cebadores que contienen una región de nucleótidos que son sustancialmente complementarios a los nucleótidos en el molde de ADN que están en dirección 5' respecto a la secuencia de ADN que se va a amplificar. «En dirección 5'» se utiliza en la presente para referirse a una ubicación 5' respecto a la secuencia de ADN que se va a amplificar en relación a la cadena codificante. Los «cebadores inversos» son cebadores que contienen una región de nucleótidos que son sustancialmente complementarios a un molde de ADN bicatenario que están en dirección 3' respecto a la secuencia de ADN que se va a amplificar. «En dirección 3'» se utiliza en la presente para referirse a una ubicación 3' respecto a la secuencia de ADN que se va a amplificar en relación a la cadena codificante.

Se puede utilizar cualquier ADN polimerasa útil para la PCR en los métodos descritos en la presente. Los reactivos y la polimerasa son comercializados por varios proveedores.

También se pueden utilizar estructuras químicas con la capacidad de fomentar la estabilidad y/o la eficacia de la traducción. El ARN tiene preferentemente UTR 5' y 3'. En una realización, la UTR 5' tiene una longitud de entre uno y 3000 nucleótidos. La longitud de las secuencias UTR 5' y 3' que se van a añadir a la región codificante se puede alterar mediante diferentes métodos, que incluyen, sin carácter limitante, diseño de cebadores para PCR que se hibridan a diferentes regiones de las UTR. Utilizando este enfoque, un experto en la técnica puede modificar la longitud de las UTR 5' y 3' requerida para lograr una eficacia de traducción óptima después de la transfección con el ARN transcrito.

- Las UTR 5' y 3' pueden ser las UTR 5' y 3' que se producen de forma natural, endógenas respecto al ácido nucleico de interés. Como alternativa, las secuencias UTR que no son endógenas respecto al ácido nucleico de interés se pueden añadir incorporando las secuencias UTR en los cebadores directo e inverso o mediante cualesquiera otras modificaciones del molde. El uso de secuencias UTR que no son endógenas respecto al ácido nucleico de interés puede ser útil para modificar la estabilidad y/o la eficacia de traducción del ARN. Por ejemplo, se sabe que elementos ricos en AU en las secuencias UTR 3' pueden disminuir la estabilidad del ARNm. Por lo tanto, UTRs 3' se pueden seleccionar o diseñar para aumentar la estabilidad del ARN transcrito en base a propiedades de UTRs que son bien conocidas en la técnica.
- En una realización, la UTR 5' puede contener la secuencia Kozak del ácido nucleico endógeno. Como alternativa, cuando se añade una UTR 5' que no es endógena respecto al ácido nucleico de interés por PCR, tal como se ha descrito anteriormente, se puede rediseñar una secuencia Kozak consenso añadiendo la secuencia UTR 5'. Las secuencias Kozak pueden aumentar la eficacia de la traducción de algunos transcritos de ARN, pero no parece que se necesiten en todos los ARN para posibilitar una traducción eficaz. Existe constancia del requisito de secuencias de Kozak para muchos ARNm. En otras realizaciones, la UTR 5' puede ser una UTR 5' de un virus de ARN, cuyo genoma de ARN es estable en las células. En otras realizaciones, se pueden utilizar diversos análogos de nucleótidos en la UTR 3' o 5' para impedir la degradación por exonucleasa del ARNm.
- En una realización, la secuencia de ácido nucleico en el vector comprende, además, una 3' UTR, p. ej., una UTR 3' descrita en esta memoria, p. ej., que comprende al menos una repetición de una UTR 3' derivada de beta-globulina humana, p. ej., una 'UTR 3' presente en SEQ ID NO: 94. En una realización, la secuencia de ácido nucleico en el vector comprende, además, un péptido escindible, p. ej., un péptido autoescindible de T2A, p. ej., un péptido autoescindible de T2A presente en SEQ ID NO: 94.
- Para permitir la síntesis de ARN a partir de un molde de ADN sin la necesidad de clonación génica, se debe unir un promotor de la transcripción al molde de ADN en dirección 5' respecto a la secuencia que se va a transcribir. Cuando una secuencia que funciona como un promotor para una ARN polimerasa se añade al extremo 5' del cebador directo, el promotor de ARN polimerasa se incorpora al producto de PCR en dirección 5' respecto al marco de lectura abierto que se va a transcribir. En una realización preferida, el promotor es un promotor de la polimerasa T7, tal como se describe en otra parte de la presente. Otros promotores útiles incluyen, sin carácter limitante, promotores de la ARN polimerasa T3 y SP6. Las secuencias de nucleótidos de consenso para los promotores T7, T3 y SP6 son conocidas en la técnica.
- En una realización preferida, el ARNm tiene tanto una caperuza en el extremo 5' como una cola de poli(A) 3' que determina la unión al ribosoma, el inicio de la traducción y la estabilidad del ARNm en la célula. En un molde de ADN circular, por ejemplo, ADN plasmídico, la ARN polimerasa produce un producto concatamérico largo que no es adecuado para la expresión en células eucariotas. La transcripción del ADN plasmídico linealizado en el extremo de la UTR 3' da como resultado un ARNm de tamaño normal que no es eficaz en la transfección eucariota, incluso si se poliadenila después de la transcripción.
- En un molde de ADN lineal, la ARN polimerasa del fago T7 puede extender el extremo 3' de la transcripción más allá de la última base del molde (Schenborn y Mierendorf, *Nuc Acids Res.*, 13:6223-36 (1985); Nacheva and Berzal-Herranz, *Eur. J. Biochem.*, 270:1485-65 (2003).
- El método convencional de integración de tramos de poliA/T en un molde de ADN es la clonación molecular. Sin embargo, la secuencia de poliA/T integrada en el ADN plasmídico puede provocar inestabilidad plasmídica, que es por lo que los moldes de ADN plasmídico obtenidos de células bacterianas están a menudo muy contaminados con deleciones y otras aberraciones. Esto hace que los procedimientos de clonación no solo sean laboriosos y lentos, sino que a menudo no sean fiables. Es por eso que un método que permite la construcción de moldes de ADN con un tramo de poliA/T 3' sin clonación es sumamente deseable.
- El segmento de poliA/T del molde de ADN transcripcional se puede producir durante la PCR utilizando un cebador inverso que contiene una cola de poliT, tal como la cola 100T (SEQ ID NO: 134) (el tamaño puede ser 50-5000 T (SEQ ID NO: 135)), o después de la PCR por cualquier otro método, incluidos, pero sin carácter limitante, ligamiento de ADN o recombinación in vitro. Las colas de poli(A) también proporcionan estabilidad a los ARN y reducen su degradación. Generalmente, la longitud de una cola de poli(A) se correlaciona positivamente con la estabilidad del ARN transcrito. En una realización, la cola de poli(A) está entre 100 y 5000 adenosinas (SEQ ID NO 136).
- Las colas de poli(A) de los ARN se pueden extender aún más después de la transcripción in vitro con el uso de una poli(A) polimerasa, tal como la poliA polimerasa de *E. coli* (E-PAP). En una realización, aumentar la longitud de una cola de poli(A) de 100 nucleótidos a entre 300 y 400 nucleótidos (SEQ ID NO: 90) da como resultado un aumento de aproximadamente dos veces en la eficacia de traducción del ARN. Adicionalmente, la unión de diferentes grupos químicos al extremo 3' puede aumentar la estabilidad del ARNm. Una unión de este tipo puede contener nucleótidos modificados/artificiales, aptámeros y otros compuestos. Por ejemplo, los análogos de ATP se pueden incorporar en la

cola de poli(A) utilizando poli(A) polimerasa. Los análogos de ATP pueden aumentar adicionalmente la estabilidad del ARN.

Las caperuzas 5' también proporcionan estabilidad a las moléculas de ARN. En una realización preferida, los ARN producidos por los métodos descritos en la presente incluyen una caperuza 5'. La caperuza 5' se proporciona utilizando técnicas conocidas en la técnica y descritas en esta memoria (Cougot, et al., Trends in Biochem. Sci., 29:436-444 (2001); Stepinski, et al., RNA, 7:1468-95 (2001); Elango, et al., Biochim. Biophys. Res. Commun., 330:958-966 (2005)).

Los ARN producidos por los métodos divulgados en la presente también pueden contener una secuencia del sitio interno de entrada al ribosoma (IRES). La secuencia IRES puede ser cualquier secuencia vírica, cromosómica o diseñada por medios artificiales que inicie la unión del ribosoma independiente de la caperuza al ARNm y facilite el inicio de la traducción. Se pueden incluir cualesquiera solutos adecuados para la electroporación celular, que puede contener factores que facilitan la permeabilidad y la viabilidad celular, tales como azúcares, péptidos, lípidos, proteínas, antioxidantes y surfactantes.

El ARN se puede introducir en las células diana utilizando cualquiera de un cierto número de métodos diferentes, por ejemplo, métodos disponibles comercialmente que incluyen, pero no se limitan a, electroporación (Amaxa Nucleofector-II (Amaxa Biosystems, Colonia, Alemania)), (ECM 830 (BTX) (Harvard Instruments, Boston, Mass.) o el Gene Pulser II (BioRad, Denver, Colo.), Multiporator (Eppendorf, Hamburgo Alemania), transfección mediada por liposomas catiónicos mediante lipofección, encapsulación de polímeros, transfección mediada por péptidos o sistemas de suministro de partículas biológicas tales como "pistolas de genes" (véase, por ejemplo, Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)).

Construcciones de Ácidos Nucleicos que Codifican un CAR

La presente divulgación proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican una o más construcciones de CAR descritas en esta memoria. En un aspecto, la molécula de ácido nucleico se proporciona como una transcripción de ARN mensajero. En un aspecto, la molécula de ácido nucleico se proporciona como una construcción de ADN.

Por consiguiente, en un aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR), en donde el CAR comprende un dominio de unión anti-CD123 (p. ej., un dominio de unión anti-CD123 humanizado), un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio estimulador, p. ej., un dominio de señalización coestimulador y/o un dominio de señalización primario, p. ej., cadena zeta. En una realización de la divulgación, el dominio de unión anti-CD123 es un dominio de unión anti-CD123 descrito en esta memoria, p. ej., un dominio de unión anti-CD 123 que comprende una secuencia seleccionada de un grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas. En una realización, la molécula de ácido nucleico aislada comprende, además, una secuencia que codifica un dominio coestimulador. En una realización, el dominio coestimulador es un dominio de señalización funcional de una proteína seleccionada del grupo que consiste en OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) y 4-1BB (CD137). En una realización, el dominio co-estimulante comprende una secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma. En una realización, el dominio transmembrana comprende un dominio transmembrana de una proteína seleccionada del grupo que consiste en la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y CD154. En una realización, el dominio transmembrana comprende una secuencia de SEQ ID NO: 5, o una secuencia con 95-99% de identidad de la misma. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización funcional de 4-1BB y un dominio de señalización funcional de CD3 zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización funcional de CD27 y un dominio de señalización funcional de CD3 zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma, y la secuencia de SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 98, o una secuencia con una identidad de un 95-99% estas, donde las secuencias que comprenden el dominio de señalización intracelular se expresan en el mismo marco y como una cadena polipeptídica única. En una realización, el dominio de unión anti-CD123 está conectado al dominio transmembrana mediante una región de bisagra, p. ej., una región de bisagra descrita en esta memoria. En una realización, la región de bisagra comprende SEQ ID NO: 4, o una secuencia con una identidad del 95-99% con la misma. En una realización, la región de bisagra comprende SEQ ID NO: 104 o SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 124, o una secuencia con un 95-99% de identidad con la misma.

En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una construcción de CAR que comprende una secuencia conductora de SEQ ID NO: 3, un dominio scFv que tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, y SEQ ID NO: 78 (o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma), una región de bisagra de SEQ ID NO: 4 (o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma), un dominio transmembrana que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 5 (o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma), un dominio coestimulador de 4-1BB que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 6 (o una secuencia con 95-99% de

identidad con la misma) o un dominio coestimulador CD27 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 23 (o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma) y un dominio estimulador de CD3 zeta que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98 (o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma).

5 En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula polipeptídica aislada codificada por la molécula de ácido nucleico. En una realización de la divulgación, la molécula de polipéptido aislada comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 83, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma.

10 En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula de receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un dominio de unión anti-CD123, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio estimulador, y en donde dicho dominio de unión a CD123 comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas.

En una realización, la molécula de CAR codificada comprende una secuencia que codifica un dominio coestimulador. En una realización, el dominio co-estimulador es un dominio de señalización funcional de una proteína seleccionada del grupo que consiste en OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18) y 4-1BB (CD137). En una realización, el dominio co-estimulador comprende una secuencia de SEQ ID NO: 6. En una realización, el dominio co-estimulador comprende una secuencia de SEQ ID NO: 23. En una realización, el dominio transmembrana es un dominio transmembrana de una proteína seleccionada del grupo que consiste en la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y CD154. En una realización, el dominio transmembrana comprende una secuencia de SEQ ID NO: 5. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización funcional de 4-1BB y un dominio de señalización funcional de zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 y la secuencia de SEQ ID NO: 7, en donde las secuencias que comprenden el dominio de señalización intracelular se expresan en el mismo marco y como una única cadena polipeptídica. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización funcional de CD27 y un dominio de señalización funcional de zeta. En una realización, el dominio de señalización intracelular comprende la secuencia de SEQ ID NO: 23 y la secuencia de SEQ ID NO: 7, en donde las secuencias que comprenden el dominio de señalización intracelular se expresan en el mismo marco y como una única cadena polipeptídica. En una realización, el dominio de unión anti-CD123 está conectado al dominio transmembrana mediante una región de bisagra. En una realización, la región de bisagra comprende SEQ ID NO: 4. En una realización, la región de bisagra comprende SEQ ID NO: 104 o SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 124.

En otro aspecto, la divulgación pertenece a una molécula de CAR codificada que comprende una secuencia conductora de SEQ ID NO: 3, un dominio scFv que tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma, una región de bisagra de SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 104 o SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 124, un dominio transmembrana que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 5, un dominio coestimulador 4-1BB que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 6 o un dominio coestimulador de CD27 que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 23, y un dominio estimulador de CD3 zeta que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98. En una realización de la divulgación, la molécula de CAR comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 77 y SEQ ID NO: 83, o una secuencia con 95-99% de identidad con la misma.

Las secuencias de ácido nucleico que codifican las moléculas deseadas se pueden obtener utilizando métodos recombinantes conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, cribando colecciones de células que expresan el gen, obteniendo el gen de un vector que se sabe que los incluye, o aislándolo directamente de células y tejidos que lo contienen, utilizando técnicas estándar. Como alternativa, el gen de interés se puede producir por medios sintéticos, en lugar de clonarse.

La presente invención proporciona también vectores en los que se inserta un ácido nucleico, p. ej., ADN, de la presente invención. Los vectores derivados de retrovirus, tales como el lentivirus, son herramientas adecuadas para lograr la transferencia de genes a largo plazo, ya que permiten la integración estable a largo plazo de un transgén y su propagación en células hijas. Los vectores lentivirales tienen la ventaja añadida sobre los vectores derivados de onco-retrovirus, tales como los virus de la leucemia murina, de que pueden transducir células no proliferantes, tales como los hepatocitos. También tienen la ventaja añadida de una baja inmunogenicidad.

En breve resumen, la expresión de ácidos nucleicos que codifican CARs se logra típicamente enlazando operativamente un ácido nucleico que codifica el polipéptido CAR o partes del mismo a un promotor e incorporando la construcción en un vector de expresión. Los vectores pueden ser adecuados para la replicación y la integración en eucariotas. Vectores típicos de clonación contienen terminadores de la transcripción y la traducción, secuencias de iniciación y promotores útiles para la regulación de la expresión de la secuencia deseada de ácido nucleico.

También se puede utilizar una construcción de expresión de la presente invención para la inmunización con ácidos nucleicos y la terapia génica, utilizando protocolos estándares de suministro de genes. En la técnica existe constancia de métodos para el suministro de genes. Véase, p. ej, Pat. de EE.UU. N^os 5.399.346, 5.580.859, 5.589.466. También se describe un vector de terapia génica.

El ácido nucleico se puede clonar en un cierto número de tipos de vectores. Por ejemplo, el ácido nucleico se puede clonar en un vector que incluye, pero no se limita a un plásmido, un fagémido, un derivado de fago, un virus animal y un cósmido. Los vectores de particular interés incluyen vectores de expresión, vectores de replicación, vectores de generación de sondas y vectores de secuenciación.

Además, el vector de expresión se puede proporcionar a una célula en forma de un vector vírico. La tecnología de vectores virales es bien conocida en la técnica y se describe, por ejemplo, en Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volúmenes 1 -4, Cold Spring Harbor Press, NY), y en otros manuales virológicos y de biología molecular. Virus, que son útiles como vectores incluyen, pero no se limitan a retrovirus, adenovirus, virus adeno-asociados, virus del herpes y lentivirus. En general, un vector adecuado contiene un origen de replicación funcional en al menos un organismo, una secuencia de promotor, sitios convenientes de endonucleasa de restricción y uno o más marcadores seleccionables (p. ej., documentos WO 01/96584; WO 01/29058; y Pat. de EE.UU. N^o 6.326.193).

Se ha desarrollado un cierto número de sistemas basados en virus para la transferencia de genes a células de mamíferos. Por ejemplo, los retrovirus proporcionan una plataforma conveniente para los sistemas de suministro de genes. Un gen seleccionado se puede insertar en un vector y empaquetar en partículas retrovíticas utilizando técnicas conocidas en la técnica. El virus recombinante se puede aislar y suministrar a las células del sujeto ya sea in vivo o ex vivo. En la técnica existe constancia de cierto número de sistemas retrovíticos. En algunas realizaciones, se utilizan vectores adenovíricos. En la técnica existe constancia de un cierto número de vectores adenovíricos. En una realización, se utilizan vectores lentivíricos.

Elementos promotores adicionales, por ejemplo, potenciadores, regulan la frecuencia de la iniciación transcripcional. Típicamente, estos se encuentran en la región 30-110 pb aguas arriba del sitio de inicio, aunque recientemente se ha demostrado que asimismo un cierto número de promotores contienen elementos funcionales aguas abajo del sitio de inicio. El espacio entre los elementos promotores con frecuencia es flexible, de modo que la función del promotor se conserva cuando los elementos se invierten o se mueven uno con respecto al otro. En el promotor de timidina-cinasa (tk), el espacio entre los elementos promotores se puede aumentar a 50 pb de separación antes de que la actividad comience a disminuir. Dependiendo del promotor, parece ser que los elementos individuales pueden funcionar de manera cooperativa o independiente para activar la transcripción.

Un ejemplo de un promotor es la secuencia promotora del citomegalovirus temprano inmediato (CMV). Esta secuencia promotora es una secuencia promotora constitutiva fuerte capaz de impulsar niveles elevados de expresión de cualquier secuencia polinucleotídica ligada operablemente a ella. Sin embargo, también se pueden utilizar otras secuencias de promotor constitutivas, que incluyen, pero no se limitan al promotor temprano del virus simio 40 (SV40), el virus del tumor mamario de ratón (MMTV), el promotor de repetición terminal larga (LTR) del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), promotor MoMuLV, un promotor del virus de la leucemia aviar, un promotor temprano inmediato del virus de Epstein-Barr, un promotor del virus del sarcoma de Rous, el promotor del factor de elongación 1 α , así como promotores de genes humanos tales como, pero no limitados al promotor de actina, el promotor de miosina, el promotor de hemoglobina y el promotor de creatina quinasa. Además, la invención no debe limitarse al uso de promotores constitutivos. Los promotores inducibles también se contemplan como parte de la invención. El uso de un promotor inducible proporciona un interruptor molecular capaz de activar la expresión de la secuencia polinucleotídica que está ligada operablemente cuando se desea tal expresión, o capaz de desactivar la expresión cuando no se desea la expresión. Ejemplos de promotores inducibles incluyen, sin carácter limitante, un promotor de metalotionina, un promotor de glucocorticoides, un promotor de progesterona y un promotor de tetraciclinas.

Con el fin de evaluar la expresión de un polipéptido CAR o porciones de este, el vector de expresión que se va a introducir en una célula también puede contener un gen marcador seleccionable o un gen indicador o ambos para facilitar la identificación y selección de células que lo expresan a partir de la población de células que se desea transfectar o infectar mediante vectores víricos. En otros aspectos, el marcador seleccionable se puede transportar en una pieza de ADN separada y utilizar en un procedimiento de cotransfección. Tanto los marcadores seleccionables como los genes informadores pueden estar flanqueados por secuencias reguladoras apropiadas para permitir la expresión en las células hospedadora. Marcadores seleccionables útiles incluyen, por ejemplo, genes de resistencia a antibióticos, tales como neo y similares.

Los genes informadores se utilizan para identificar células que pueden haber sido transfectadas y para evaluar la funcionalidad de las secuencias reguladoras. En general, un gen informador es un gen que no está presente ni se expresa en el organismo o tejido receptor y que codifica un polipéptido cuya expresión se pone de manifiesto por alguna propiedad fácilmente detectable, por ejemplo, actividad enzimática. La expresión del gen informador se analiza en un momento adecuado después de que el ADN se haya introducido en las células receptoras. Genes informadores

5 adecuados pueden incluir genes que codifican luciferasa, beta-galactosidasa, cloranfenicol acetil transferasa, fosfatasa alcalina secretada o el gen de la proteína verde fluorescente (p. ej., Ui-Tei et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82). Sistemas de expresión adecuados son bien conocidos y se pueden preparar utilizando técnicas conocidas u obtenerse de proveedores comerciales. En general, la construcción con la región flanqueante 5' mínima que muestra el nivel más alto de expresión del gen indicador se identifica como el promotor. Regiones promotoras de este tipo pueden enlazarse a un gen informador y utilizarse para evaluar la capacidad de los agentes para modular la transcripción impulsada por el promotor.

10 En un aspecto, el vector comprende un gen suicida, en que la expresión del gen da como resultado la muerte de la célula que comprende el vector. Por ejemplo, en algunos casos, no es deseable la expresión prolongada del CAR de la invención. En un aspecto, la inclusión de un gen suicida en el vector permite un control más preciso sobre la expresión de CAR en un sujeto. En un aspecto, la expresión del gen suicida es inducible, por ejemplo, con el uso de un promotor inducible que regula la expresión del gen suicida.

15 En la técnica existe constancia de métodos para introducir y expresar genes en una célula. En el contexto de un vector de expresión, el vector se puede introducir fácilmente en una célula hospedadora, por ejemplo, células de mamífero, bacterianas, de levaduras o de insectos mediante cualquier método de la técnica. Por ejemplo, el vector de expresión se puede transferir a una célula hospedadora por medios físicos, químicos o biológicos.

20 Métodos físicos para introducir un polinucleótido en una célula hospedadora incluyen precipitación con fosfato de calcio, lipofección, bombardeo de partículas, microinyección, electroporación y similares. Métodos para producir células que comprenden vectores y/o ácidos nucleicos exógenos son muy conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volúmenes 1 -4, Cold Spring Harbor Press, NY). En algunas realizaciones, un método para la introducción de un polinucleótido en una célula huésped es la transfección con fosfato de calcio.

25 Métodos biológicos para introducir un polinucleótido de interés en una célula hospedadora incluyen el uso de vectores de ADN y ARN. Los vectores víricos, y especialmente los vectores retrovíricos, se han convertido en el método más ampliamente utilizado para insertar genes en células de mamíferos, por ejemplo, seres humanos. Otros vectores víricos pueden derivarse de lentivirus, poxvirus, virus del herpes simplex I, adenovirus y virus adenoasociados, y similares. Véase, p. ej, Pat. de EE.UU. N°s 5.350.674 y 5.585.362.

30 Los medios químicos para introducir un polinucleótido en una célula hospedadora incluyen sistemas de dispersión coloidal, tales como complejos de macromoléculas, nanocápsulas, microesferas, perlas y sistemas basados en lípidos que incluyen emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mixtas y liposomas. Un sistema coloidal a modo de ejemplo para su uso como vehículo de suministro in vitro e in vivo es un liposoma (p. ej., una vesícula de membrana artificial).

35 En el caso de que se utilice un sistema de suministro no viral, un vehículo de suministro ilustrativo es una nanopartícula, p. ej., un liposoma u otro sistema de suministro de tamaño submicrónico adecuado. Se contempla el uso de formulaciones lipídicas para la introducción de los ácidos nucleicos en una célula hospedadora (in vitro, ex vivo o in vivo). En otro aspecto, el ácido nucleico puede estar asociado con un lípido. El ácido nucleico asociado con un lípido puede estar encapsulado en el interior acuoso de un liposoma, intercalado dentro de la bicapa lipídica de un liposoma, unido a un liposoma a través de una molécula de enlace que está asociada tanto con el liposoma como con el oligonucleótido, atrapado en un liposoma, complejado con un liposoma, dispersado en una solución que contiene un lípido, mezclado con un lípido, combinado con un lípido, contenido como una suspensión en un lípido, contenido o complejado con una micela, o asociado de otra manera con un lípido. Las composiciones asociadas a lípidos, lípidos/ADN o lípidos/vectores de expresión no se limitan a ninguna estructura particular en solución. Por ejemplo, pueden estar presentes en una estructura bicapa, como micelas, o con una estructura «colapsada». También pueden simplemente intercalarse en una solución, posiblemente formando agregados que no tienen un tamaño o forma uniformes. Los lípidos son sustancias grasas que pueden ser lípidos de origen natural o sintéticos. Por ejemplo, los lípidos incluyen las microgotas grasas que se producen de forma natural en el citoplasma, así como también la clase de compuestos que contienen hidrocarburos alifáticos de cadena larga y sus derivados, tales como ácidos grasos, alcoholes, aminas, aminoalcoholes y aldehídos.

40 Se pueden obtener lípidos adecuados para su uso de proveedores comerciales. Por ejemplo, se puede obtener dimiristilfosfatidilcolina ("DMPC") de Sigma, St. Louis, MO; se puede obtener fosfato de dicetilo ("DCP") de K & K Laboratories (Plainview, NY); se puede obtener colesterol ("Choi") de Calbiochem-Behring; se puede obtener dimiristilfosfatidilglicerol ("DMPG") y otros lípidos de Avanti Polar Lipids, Inc. (Birmingham, AL). Soluciones madre de lípidos en cloroformo o cloroformo/metanol se pueden almacenar a aproximadamente -200°C. El cloroformo se utiliza como el único disolvente, ya que se evapora más fácilmente que el metanol. "Liposoma" es un término genérico que abarca una diversidad de vehículos lipídicos simples y multilamelares formados por la generación de bicapas o agregados lipídicos encerrados. Los liposomas pueden estar caracterizados por tener estructuras vesiculares con una membrana de bicapa de fosfolípidos y un medio acuoso interno. Los liposomas multilamelares tienen múltiples capas de lípidos separadas por un medio acuoso. Se forman de manera espontánea cuando los fosfolípidos se suspenden

en un exceso de solución acuosa. Los componentes lipídicos se reorganizan antes de la formación de estructuras cerradas y atrapan el agua y los solutos disueltos entre las bicapas lipídicas (Ghosh et al., 1991 *Glycobiology* 5: 505-10). Sin embargo, también se incluyen composiciones que tienen diferentes estructuras en solución que la estructura vesicular normal. Por ejemplo, los lípidos pueden asumir una estructura micelar o simplemente existir como agregados no uniformes de moléculas lipídicas. También se contemplan los complejos de lipofectamina-ácido nucleico.

Independientemente del método utilizado para introducir ácidos nucleicos exógenos en una célula hospedadora o exponer de otra manera una célula al inhibidor de la presente divulgación, con el fin de confirmar la presencia de la secuencia de ADN recombinante en la célula hospedadora, se pueden realizar varios ensayos. Ensayos de este tipo incluyen, por ejemplo, ensayos "biológicos moleculares" bien conocidos por los expertos en la técnica, tales como transferencia Southern y Northern, RT-PCR y PCR; ensayos "bioquímicos", tales como detectar la presencia o ausencia de un péptido particular, p. ej., por medios inmunológicos (ELISAs y borrones Western) o por ensayos descritos en esta memoria para identificar agentes que caen dentro del alcance de la invención.

La presente divulgación proporciona, además, un vector que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica CAR. En un aspecto, un vector de CAR se puede transducir directamente a una célula, p. ej., una célula T. En un aspecto, el vector es un vector de clonación o expresión, p. ej., un vector que incluye, pero no se limita a uno o más plásmidos (p. ej., plásmidos de expresión, vectores de clonación, minicírculos, minivectores, cromosomas de doble minuto), construcciones de vectores retrovirales y lentivirales. En un aspecto, el vector es capaz de expresar la construcción CAR en células T de mamífero. En un aspecto, en linfocito T de mamífero es un linfocito T humano.

Fuentes de células T

Antes de la expansión y modificación genética, se obtiene una fuente de células T de un sujeto. El término "sujeto" se pretende que incluya organismos vivos en los que se puede provocar una respuesta inmunitaria (por ejemplo, mamíferos). Ejemplos de sujetos incluyen seres humanos, perros, gatos, ratones, ratas y especies transgénicas de estos. Células T se pueden obtener de un cierto número de fuentes, incluidas las células mononucleares de la sangre periférica, la 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 de la presente invención, se puede utilizar cualquier número de líneas de células T disponibles en la técnica. En determinados aspectos de la presente invención, las células T se pueden obtener de una unidad de sangre recogida de un sujeto utilizando cualquier número de técnicas conocidas por el experto, tal como la separación con Ficoll™. En un aspecto preferido, se obtienen células de la sangre circulante de un individuo por aféresis. El producto de aféresis contiene típicamente linfocitos, incluidos células T, monocitos, granulocitos, linfocitos B, otros glóbulos blancos nucleados, glóbulos rojos y plaquetas. En un aspecto, las células recogidas por aféresis se pueden lavar para eliminar la fracción de plasma y colocar las células en un tampón o medio apropiado para las etapas de procesamiento posteriores. En un aspecto de la invención, las células se lavan con solución salina tamponada con fosfato (PBS). En un aspecto alternativo, la solución de lavado carece de calcio y puede carecer de magnesio o puede carecer de muchos cationes divalentes, si no todos. Las etapas de activación iniciales en ausencia de calcio pueden conducir a una activación magnificada. Como los expertos ordinarios en la técnica apreciarían fácilmente, una etapa de lavado se puede lograr mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica, tal como utilizando una centrífuga semiautomática de «flujo continuo» (por ejemplo, el procesador de células Cobe 2991, el Baxter CytoMate o el Haemonetics Cell Saver 5) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después del lavado, las células se pueden resuspender en diversos tampones biocompatibles, tales como, por ejemplo, PBS exento de Ca, exento de Mg, PlasmaLyte A u otra solución salina con o sin tampón. Como alternativa, los componentes indeseables de la muestra de aféresis se pueden separar y las células resuspender directamente en medios de cultivo.

En otro aspecto, las células T se aíslan de linfocitos de sangre periférica lisando los glóbulos rojos y agotando los monocitos, por ejemplo, por centrifugación a través de un gradiente PERCOLL™ o por elutriación centrífuga en contraflujo. Una subpoblación específica de células T, como las células T CD3⁺, CD28⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺ y CD45RO⁺ puede aislarse adicionalmente mediante técnicas de selección positiva o negativa. Por ejemplo, en un aspecto, las células T se aíslan mediante incubación con perlas conjugadas con anti-CD3/anti-CD28 (por ejemplo, 3x28), tales como DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T, durante un período de tiempo suficiente para una selección positiva de los células T deseados. En un aspecto, el período de tiempo es de aproximadamente 30 minutos. En un aspecto adicional, el período de tiempo varía de 30 minutos a 36 horas o más y todos los valores enteros entre ellos. En un aspecto adicional, el período de tiempo es de al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 horas. En aún otro aspecto, el período de tiempo es de 10 a 24 horas. En un aspecto, el período de tiempo de incubación es de 24 horas. Se pueden utilizar tiempos de incubación más largos para aislar células T en cualquier situación en la que haya pocas células T en comparación con otros tipos de células, tal como en el aislamiento de linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) del tejido tumoral o de individuos inmunocomprometidos. Además, el uso de tiempos de incubación más prolongados puede aumentar la eficacia de captura de células T CD8⁺. Por lo tanto, simplemente acortando o alargando el tiempo en que se permite que las células T se unan a las perlas de CD3/CD28 y/o aumentando o disminuyendo la relación de perlas respecto a células T (tal como se describe más adelante en esta memoria), se puede seleccionar preferentemente a favor o en contra de subpoblaciones de células T en el inicio del cultivo o en otros puntos temporales durante el proceso. Adicionalmente, al aumentar o disminuir la relación de anticuerpos anti-CD3 y/o anti-CD28 en las perlas u

otra superficie, se puede seleccionar preferentemente a favor o en contra de las subpoblaciones de células T en el inicio del cultivo o en otros puntos temporales deseados. El experto reconocería que también se pueden utilizar múltiples rondas de selección en el contexto de esta invención. En determinados aspectos, puede ser deseable realizar el procedimiento de selección y utilizar las células «no seleccionadas» en el proceso de activación y expansión. Las células «no seleccionadas» también se pueden someter a rondas adicionales de selección.

El enriquecimiento de una población de células T mediante selección negativa se puede lograr con una combinación de anticuerpos dirigidos a marcadores superficiales únicos para las células seleccionadas de manera negativa. Un método es la clasificación y/o selección celular mediante inmunoadherencia magnética negativa o citometría de flujo que utiliza un combinado de anticuerpos monoclonales dirigidos a marcadores de la superficie celular presentes en las células seleccionadas de manera negativa. Por ejemplo, para enriquecer las células CD4⁺ mediante selección negativa, un cóctel de anticuerpos monoclonales incluye típicamente anticuerpos contra CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR y CD8. En determinados aspectos, puede ser deseable enriquecer o seleccionar positivamente células T reguladoras que expresan típicamente CD4⁺, CD25⁺, CD62L^{hi}, GITR⁺, and FoxP3⁺. Alternativamente, en determinados aspectos, las células T reguladoras se agotan mediante perlas conjugadas anti-C25 u otro método similar de selección.

En una realización, se puede seleccionar una población de células T que exprese uno o más de IFN- γ , TNF α , IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, granzima B y perforina. Métodos para el cribado de la expresión celular se pueden determinar, p. ej., mediante los métodos descritos en la Publicación PCT N^o: WO 2013/126712.

Para el aislamiento de una población de células deseada mediante selección positiva o negativa, se puede variar la concentración de células y superficie (por ejemplo, partículas tales como perlas). En determinados aspectos, puede ser deseable disminuir significativamente el volumen en el que se mezclan juntas las perlas y las células (por ejemplo, aumento de la concentración de células), para garantizar el máximo contacto de las células y las perlas. Por ejemplo, en un aspecto, se utiliza una concentración de 2 billones de células/ml. En un aspecto, se utiliza una concentración de 1 billón de células/ml. En un aspecto adicional, se utilizan más de 100 millones de células/ml. En un aspecto adicional, se utiliza una concentración de células de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 millones de células/ml. En aún otro aspecto, se utiliza una concentración de células de 75, 80, 85, 90, 95 o 100 millones de células/ml. En aspectos adicionales, se pueden utilizar concentraciones de 125 o 150 millones de células/ml. El uso de concentraciones elevadas puede dar como resultado un mayor rendimiento celular, activación celular y expansión celular. Además, el uso de altas concentraciones de células permite una captura más eficiente de las células que pueden expresar débilmente antígenos diana de interés, tales como células T CD28 negativas, o de muestras en que hay muchas células tumorales presentes (p. ej., sangre leucémica, tejido tumoral, *etc*). Poblaciones de células de este tipo pueden tener valor terapéutico y serían deseables de obtener. Por ejemplo, el uso de una alta concentración de células permite una selección más eficiente de células T CD8⁺ que normalmente tienen una expresión de CD28 más débil.

En un aspecto relacionado, puede ser deseable utilizar concentraciones más bajas de células. Al diluir significativamente la mezcla de células T y superficie (p. ej., partículas tales como perlas), se minimizan las interacciones entre las partículas y las células. Esto selecciona las células que expresan cantidades elevadas de antígenos deseados para unirse a las partículas. Por ejemplo, las células T CD4⁺ expresan niveles más altos de CD28 y se capturan de manera más eficiente que las células T CD8⁺ en concentraciones diluidas. En un aspecto, la concentración de células utilizada es 5 X 10⁶/ml. En otros aspectos, la concentración utilizada puede ser de aproximadamente 1 X 10⁵/ml a 1 X 10⁶/ml, y cualquier valor entero entremedias.

En otros aspectos, las células se pueden incubar en un dispositivo rotatorio durante períodos de tiempo variables a velocidades variables a 2-10 °C o a temperatura ambiente.

Los células T para estimulación también se pueden congelar después de una etapa de lavado. Sin desear ceñirse a ninguna teoría, el paso de congelación y descongelación posterior proporciona un producto más uniforme al separar granulocitos y, en cierta medida, monocitos en la población celular. Después de la etapa de lavado que separa el plasma y las plaquetas, las células se pueden suspender en una solución de congelación. Si bien muchas soluciones y parámetros de congelación son conocidos en la técnica y serán útiles en este contexto, un método conlleva el uso de PBS que contiene un 20% de DMSO y un 8% de albúmina de suero humano, o medios de cultivo que contienen un 10% de Dextrano 40 y un 5% de Dextrosa, un 20% de Albúmina de Suero Humano y un 7,5% de DMSO, o un 31,25% de Plasmalyte-A, un 31,25% de Dextrosa 5%, un 0,45% de NaCl, un 10% de Dextrano 40 y un 5% de Dextrosa, un 20% de Albúmina de Suero Humano y un 7,5% de DMSO u otros medios de congelación celular adecuados que contienen, por ejemplo, Hesperan y Plasmalyte A, las células se congelan después a -80°C a una velocidad de 1° por minuto y se almacenan en la fase de vapor de un tanque de almacenamiento de nitrógeno líquido. Se pueden utilizar otros métodos de congelación controlada, así como la congelación no controlada inmediatamente a -20 °C o en nitrógeno líquido.

En ciertos aspectos, las células crioconservadas se descongelan y se lavan tal como se describe en la presente y se dejan reposar durante una hora a temperatura ambiente antes de la activación utilizando los métodos de la presente invención.

También se contempla en el contexto de la divulgación la recogida de muestras de sangre o producto de aféresis de un sujeto en un período de tiempo anterior a cuando las células expandidas como se describen en el presente memoria podrían ser necesarias. Como tal, la fuente de las células a expandir se puede recoger en cualquier momento necesario, y las células deseadas, tales como las células T, se pueden aislar y congelar para su uso posterior en la terapia con células T para cualquier número de enfermedades o afecciones que se beneficiarían de terapia con células T, tales como las descritas en esta memoria. En un aspecto, se toma una muestra de sangre o una aféresis de un sujeto generalmente sano. En ciertos aspectos, se toma una muestra de sangre o una aféresis de un sujeto generalmente sano que está en riesgo de desarrollar una enfermedad, pero que aún no ha desarrollado una enfermedad, y las células de interés se aíslan y congelan para su uso posterior. En determinados aspectos, las células T pueden expandirse, congelarse y utilizarse en un momento posterior. En ciertos aspectos, se recogen muestras de un paciente poco después del diagnóstico de una enfermedad particular tal como se describe en la presente, pero antes de cualesquiera tratamientos. En un aspecto adicional, las células se aíslan de una muestra de sangre o de una aféresis de un sujeto antes de cualquier número de modalidades de tratamiento relevantes, que incluyen, sin carácter limitante, tratamiento con agentes tales como natalizumab, efalizumab, agentes antivíricos, quimioterapia, radiación, agentes inmunosupresores, tales como ciclosporina, azatioprina, metotrexato, micofenolato y FK506, anticuerpos u otros agentes immunoablativos, tales como CAMPATH, anticuerpos anti-CD3, citoxano, fludarabina, ciclosporina, FK506, rapamicina, ácido micofenólico, esteroides, FR901228 e irradiación.

Las células T pueden obtenerse de un paciente directamente después del tratamiento. En este sentido, se ha observado que tras determinados tratamientos oncológicos, en particular tratamientos con fármacos que dañan el sistema inmunológico, poco después del tratamiento durante el período en el que los pacientes normalmente se estarían recuperando del tratamiento, la calidad de las células T obtenidas puede ser óptima o mejorado por su capacidad para expandirse *ex vivo*. Asimismo, después de la manipulación *ex vivo* utilizando los métodos descritos en esta memoria, estas células pueden estar en un estado preferido para un injerto mejorado y expansión *in vivo*. Por lo tanto, se contempla dentro del contexto de la presente divulgación recolectar células de la sangre, incluyendo células T, células dendríticas u otras células del linaje hematopoyético, durante esta fase de recuperación. Además, en ciertos aspectos, los regímenes de movilización (por ejemplo, la movilización con GM-CSF) y acondicionamiento pueden utilizarse para crear una condición en un sujeto en el que se favorezca la repoblación, recirculación, regeneración y/o expansión de tipos de células particulares, especialmente durante un intervalo de tiempo definido después de la terapia. Tipos ilustrativos de células incluyen células T, células B, células dendríticas y otras células del sistema inmunitario.

Activación y Expansión de Células T

Las células T pueden activarse y expandirse generalmente utilizando métodos tal como se describe, por ejemplo, en las Patentes de EE.UU. 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 de EE.UU. N° 20060121005.

Generalmente, las células T de la invención se pueden expandir por contacto con una superficie que tiene fijado un agente que estimula una señal asociada al complejo CD3/TCR y un ligando que estimula una molécula coestimuladora en la superficie de las células T. En particular, las poblaciones de células T se pueden estimular tal como se describe en esta memoria, tal como por contacto con un anticuerpo anti-CD3, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, o un anticuerpo anti-CD2 inmovilizado sobre una superficie, o por contacto con un activador de proteína quinasa C (p. ej., briostatina) junto con un ionóforo de calcio. Para la coestimulación de una molécula accesoria en la superficie de las células T, se utiliza un ligando que se une a la molécula accesoria. Por ejemplo, una población de células T se puede poner en contacto con un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28, en condiciones apropiadas para estimular la proliferación de las células T. Para estimular la proliferación de células T CD4⁺ o células T CD8⁺, un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28. Ejemplos de un anticuerpo anti-CD28 incluyen 9.3, B-T3, XR-CD28 (Diaclone, Besançon, Francia) se pueden usar al igual que otros métodos comúnmente conocidos en la técnica (Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):13191328, 1999; Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999).

En determinados aspectos, la señal estimuladora primaria y la señal coestimuladora para la célula T pueden ser proporcionadas por diferentes protocolos. Por ejemplo, los agentes que proporcionan cada una de las señales pueden estar en solución o acoplados a una superficie. Cuando se acoplan a una superficie, los agentes se pueden acoplar a la misma superficie (*es decir*, en formación "cis") o a superficies separadas (*es decir*, en formación "trans"). Como alternativa, un agente puede estar acoplado a una superficie y el otro agente en solución. En un aspecto, el agente que proporciona la señal coestimuladora se une a una superficie celular y el agente que proporciona la señal de activación primaria está en solución o acoplado a una superficie. En determinados aspectos, ambos agentes pueden estar en solución. En otro aspecto, los agentes pueden estar en forma soluble y luego reticulados a una superficie, tal como una célula que expresa receptores Fc o un anticuerpo u otro agente de unión que se unirá a los agentes. A este respecto, véanse, por ejemplo, las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE.UU. N°s 20040101519 y 20060034810 para células presentadoras de antígenos artificiales (aAPCs) que se contemplan para su uso en la activación y expansión de células T en la presente invención.

En un aspecto, los dos agentes se inmovilizan en perlas, ya sea en la misma perla, *es decir*, "cis", o en perlas separadas, *es decir*, "trans". A modo de ejemplo, el agente que proporciona la señal de activación primaria es un anticuerpo anti-CD3 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y el agente que proporciona la señal coestimuladora es un anticuerpo anti-CD28 o un fragmento de unión a antígeno del mismo; y ambos agentes se co-
 5 inmovilizan en la misma perla en cantidades moleculares equivalentes. En un aspecto, se utiliza una relación 1:1 de cada uno de los anticuerpos unidos a las perlas para la expansión de células T CD4⁺ y el crecimiento de células T. En determinados aspectos de la presente invención, se utiliza una relación de anticuerpos anti-CD3:CD28 unidos a las perlas tal que se observa un aumento en la expansión de células T en comparación con la expansión observada utilizando una relación de 1:1. En un aspecto, se observa un aumento de aproximadamente 1 a aproximadamente 3
 10 veces en comparación con la expansión observada utilizando una relación de 1:1. En un aspecto, la relación de anticuerpo para CD3:CD28 unido a las perlas varía de 100:1 a 1:100 y todos los valores enteros entre ellos. En un aspecto de la presente invención, se une más anticuerpo anti-CD28 a las partículas que anticuerpo anti-CD3, p. ej., la proporción de CD3:CD28 es menor que uno. En ciertos aspectos de la invención, la relación de anticuerpo anti-CD28 respecto a anticuerpo anti-CD3 unido a las perlas es superior a 2:1. En un aspecto particular, se utiliza una relación de CD3:CD28 de 1:100 del anticuerpo unido a perlas. En otro aspecto, se utiliza una relación de CD3:CD28 de 1:75 del anticuerpo unido a perlas. En un aspecto adicional, se utiliza una relación de CD3:CD28 de 1:50 del anticuerpo unido a perlas. En otro aspecto, se utiliza una relación de CD3:CD28 de 1:30 del anticuerpo unido a perlas. En un aspecto, se utiliza una relación de CD3:CD28 de 1:10 del anticuerpo unido a perlas. En otro aspecto, se utiliza una relación de CD3:CD28 de 1:3 del anticuerpo unido a las perlas. En aún otro aspecto, se utiliza una relación de CD3:CD28 de 3:1 de anticuerpo unido a las perlas.

Se pueden utilizar relaciones de partículas respecto a células de 1:500 a 500:1 y cualquier valor entero entre ellos para estimular células T u otras células diana. Como los expertos en la técnica apreciarán fácilmente, la relación de partículas respecto a células puede depender del tamaño de partícula con relación a la célula diana. Por ejemplo, las perlas de pequeño tamaño solo se pueden unir a unas pocas células, mientras que las perlas más grandes se pueden
 25 a unir muchas. En determinados aspectos, la relación de células respecto a partículas varía de 1:100 a 100:1 y cualquier valor entero intermedio, y en aspectos adicionales, la relación comprende de 1:9 a 9:1 y cualquier valor entero intermedio, que también se pueden utilizar para estimular las células T. La relación de partículas acopladas anti-CD3 y anti-CD28 a las células T que dan como resultado la estimulación de las células T puede variar como se indicó arriba, sin embargo, determinados valores preferidos incluyen 1:100, 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1 y 15:1, siendo una relación preferida de al menos 1:1 partículas por célula T. En un aspecto, se utiliza una relación de partículas respecto a células de 1:1 o inferior. En un aspecto particular, una relación de partícula a célula ventajosa es 1:5. En aspectos adicionales, la relación de partículas respecto a células puede variar dependiendo del día de estimulación. Por ejemplo, en un aspecto, la relación de partículas respecto a células es de 1:1 a 10:1 el primer día y se añaden partículas adicionales a las células cada día o en días alternos a partir de entonces durante hasta 10 días, con relaciones finales de 1:1 a 1:10 (basadas en recuentos de células el día de la adición). En un aspecto particular, la relación de partículas respecto a células es 1:1 el primer día de estimulación y se ajusta a 1:5 el tercer y quinto días de estimulación. En otro aspecto, las partículas se añaden sobre una base de diariamente o cada dos días hasta una relación final de 1:1 el primer día y 1:5 el tercer
 35 y quinto día de estimulación. En otro aspecto, la relación de partículas a células es 2:1 el primer día de estimulación y ajustada a 1:10 el tercer y quinto día de estimulación. En otro aspecto, las partículas se añaden sobre una base de diariamente o cada dos días hasta una relación final de 1:1 el primer día y 1:10 el tercer y quinto día de estimulación. Un experto en la técnica apreciará que pueden ser adecuadas diversas relaciones diferentes para su uso en la presente invención. En particular, las relaciones variarán dependiendo del tamaño de partícula y del tamaño y tipo de célula. En un aspecto, las relaciones de uso más típicas son aproximadamente 1:1, 2:1 o 3:1 el primer día.

En aspectos adicionales de la presente invención, las células, tales como las células T, se combinan con perlas recubiertas con agente, las perlas y las células se separan posteriormente, y entonces se cultivan las células. En un aspecto alternativo, antes del cultivo, las perlas recubiertas con agente y las células no se separan, sino que se cultivan
 50 juntas. En un aspecto adicional, las perlas y las células se concentran primero mediante la aplicación de una fuerza, tal como una fuerza magnética, que da como resultado un incremento del ligamiento de los marcadores de la superficie celular, y con ello se induce la estimulación celular.

A modo de ejemplo, las proteínas de la superficie celular se pueden ligar permitiendo que perlas paramagnéticas a las que se unen anti-CD3 y anti-CD28 (perlas 3x28) entren en contacto con las células T. En un aspecto, las células (por ejemplo, 10⁴ a 10⁹ células T) y las perlas (por ejemplo, perlas paramagnéticas T DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 en una relación de 1:1) se combinan en un tampón, por ejemplo PBS (sin cationes divalentes tales como calcio y magnesio). Nuevamente, los expertos en la técnica pueden apreciar fácilmente que se puede utilizar cualquier concentración celular. Por ejemplo, la célula diana puede ser muy rara en la muestra y comprender solo 0,01% de la muestra o la muestra completa (*es decir*, 100%) puede comprender la célula diana de interés. En consecuencia, cualquier número de células está dentro del contexto de la presente invención. En determinados aspectos, puede ser deseable disminuir significativamente el volumen en el que se mezclan juntas las partículas y las células (p. ej., aumento de la concentración de células), para garantizar el máximo contacto de las células y las partículas. Por ejemplo, en un aspecto, se utiliza una concentración de aproximadamente 2 billones de células/ml. En otro aspecto, se utilizan más de 100 millones de células/ml. En un aspecto adicional, se utiliza una concentración de células de 10,
 65

15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 millones de células/mL. En aún otro aspecto, se utiliza una concentración de células de 75, 80, 85, 90, 95 o 100 millones de células/ml. En aspectos adicionales, se pueden utilizar concentraciones de 125 o 150 millones de células/mL. El uso de concentraciones elevadas puede dar como resultado un mayor rendimiento celular, activación celular y expansión celular. Además, el uso de concentraciones celulares elevadas permite una
 5 captura más eficaz de las células que puedan expresar débilmente los antígenos diana de interés, tales como células T CD28-negativas. Tales poblaciones de células pueden tener valor terapéutico y sería deseable obtenerlas en determinados aspectos. Por ejemplo, el uso de una alta concentración de células permite una selección más eficaz de células T CD8+ que normalmente tienen una expresión de CD28 más débil.

10 En un aspecto de la presente invención, la mezcla se puede cultivar durante de varias horas (aproximadamente 3 horas) a aproximadamente 14 días o cualquier valor entero por hora entre ellos. En otro aspecto, la mezcla se puede cultivar durante 21 días. En un aspecto de la invención, las perlas y los células T se cultivan juntas durante aproximadamente ocho días. En otro aspecto, las perlas y los células T se cultivan juntas durante 2-3 días. También
 15 pueden ser deseables varios ciclos de estimulación, de modo que el tiempo de cultivo de los células T pueda ser de 60 días o más. Condiciones apropiadas para el cultivo de células T incluyen un medio apropiado (p. ej., Medio Mínimo Esencial o Medio RPMI 1640 o, X-vivo 15, (Lonza)) que puede contener factores necesarios para la proliferación y la viabilidad, incluido suero (p. ej., suero humano o bovino fetal), interleuquina-2 (IL-2), insulina, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β y TNF- α o cualesquiera otros aditivos para el crecimiento de células conocidos por el experto. Otros aditivos para el crecimiento de células incluyen, sin carácter limitante, un tensioactivo, plasmanate y
 20 agentes reductores, tales como N-acetil-cisteína y 2-mercaptoetanol. Los medios pueden incluir RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 15 y X-Vivo 20, Optimizer, con aminoácidos añadidos, piruvato de sodio y vitaminas, ya sea sin suero o con un suplemento de 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, p. ej., penicilina y estreptomina, se incluyen solo en cultivos experimentales, no en cultivos de células que se han de
 25 infundir a un sujeto. Las células diana se mantienen en condiciones necesarias para propiciar el crecimiento, por ejemplo, una temperatura (por ejemplo, 37 °C) y atmósfera (p. ej., aire más un 5% de CO₂) apropiadas.

Los células T que han sido expuestos a tiempos de estimulación variados pueden exhibir características diferentes. Por ejemplo, productos de células mononucleares de la sangre periférica aféresis o de sangre típica tienen una
 30 población de células T auxiliares (T_H, CD4⁺) que es mayor que la población de células T citotóxicas o supresoras (T_c, CD8⁺). La expansión *ex vivo* de células T mediante la estimulación de los receptores CD3 y CD28 produce una población de células T que antes de aproximadamente los días 8-9 consiste predominantemente en células T_H, mientras que después de aproximadamente los días 8-9, la población de células T comprende una población cada vez mayor de células T_c. Por consiguiente, dependiendo del propósito del tratamiento, puede ser ventajoso infundir a un
 35 sujeto una población de células T que comprenda predominantemente células T_H. De manera similar, si se ha aislado un subconjunto específico de antígeno de células T_c, puede ser beneficioso expandir este subconjunto en mayor grado. Además, aparte de los marcadores CD4 y CD8, otros marcadores fenotípicos varían significativamente, pero en gran parte, de forma reproducible durante el curso del proceso de expansión celular. Por lo tanto, dicha reproducibilidad permite la capacidad de adaptar un producto de tipo células T activados para fines específicos.

40 Una vez que se construye un CAR anti-CD123, se pueden utilizar diversos ensayos para evaluar la actividad de la molécula, tales como, pero no limitados a la capacidad de expandir las células T después de la estimulación del antígeno, mantener la expansión de las células T en ausencia de re-estimulación, estimulación y actividades anticancerígenas en modelos animales apropiados. Los ensayos para evaluar los efectos de un CAR CD123 se describen con más detalle a continuación:

Aplicación Terapéutica para Enfermedades y Trastornos

45 Las afecciones de tipo cáncer hematológico son los tipos de cáncer tales como leucemia y afecciones linfoproliferativas malignas que afectan a la sangre, médula ósea y el sistema linfático.

La leucemia se puede clasificar como leucemia aguda y leucemia crónica. La leucemia aguda se puede clasificar además como leucemia mielógena aguda (AML) y leucemia linfóide aguda (ALL). La leucemia crónica incluye leucemia mielógena crónica (CML) y leucemia linfóide crónica (CLL). Otras afecciones relacionadas incluyen síndromes
 55 mielodisplásicos (MDS, conocidos previamente como "pre-leucemia") que son una colección diversa de afecciones hematológicas unidas por la producción ineficaz (o displasia) de células sanguíneas mieloides y riesgo de transformación en AML.

60 En AML, la transformación maligna y la proliferación descontrolada de una célula progenitora mielóide de larga vida, diferenciada de manera anómala da como resultado números circulantes elevados de formas sanguíneas inmaduras y el reemplazo de médula ósea normal por células malignas. Los síntomas incluyen fatiga, palidez, facilidad para que aparezcan hematomas y de sufrir hemorragias, fiebre e infección; los síntomas de infiltración leucémica están presentes en tan solo aproximadamente un 5% de los pacientes (a menudo como manifestaciones de la piel). El examen de un frotis de la sangre periférica y de la médula ósea es una prueba diagnóstica. El tratamiento existente

incluye quimioterapia de inducción para lograr remisión y quimioterapia después de la remisión (con o sin trasplante de células madre) para evitar recaídas.

5 AML tiene varios subtipos que se distinguen entre sí por la morfología, inmunofenotipo y citoquímica. Se describen cinco clases, en función del tipo celular predominante, incluida la mieloide, mieloide-monocítica, monocítica, eritroide y megacariocítica.

10 Las tasas de inducción de la remisión varían entre un 50 y un 85%. La supervivencia sin enfermedad a largo plazo ocurre supuestamente entre un 20 y un 40% de los pacientes y aumenta hasta entre un 40 y un 50% en los pacientes más jóvenes tratados con un trasplante de células madre.

15 Ciertos factores pronósticos ayudan a determinar la intensidad y protocolo del tratamiento; los pacientes con características diagnósticas muy negativas reciben normalmente las formas más intensas de terapia, debido a que se cree que los posibles beneficios justifican la mayor toxicidad del tratamiento. El factor pronóstico más importante es el cariotipo celular de la leucemia; los cariotipos favorables incluyen t(15;17), t(8;21), e inv16 (p13;q22). Los factores negativos incluyen el aumento de edad, una fase mielodisplásica precedente, leucemia secundaria, recuento de WBC elevado y ausencia de cuerpos de Auer.

20 La terapia inicial intenta inducir la remisión y difiere en mayor grado de la ALL en que la AML responde a menos fármacos. La pauta básica de inducción incluye citarabina mediante infusión IV continua o dosis elevadas durante de 5 a 7 días; se administra IV daunorrubicina o idarrubicina durante 3 días durante este tiempo. Algunas pautas incluyen 6-tioguanina, etopósido, vincristina y prednisona, pero su contribución no está clara. El tratamiento normalmente da como resultado una mielosupresión significativa, con infección o hemorragia; hay una latencia significativa antes de la recuperación de la médula ósea. Durante este tiempo, es vital un cuidado preventivo y asistencial meticuloso.

25 La presente divulgación proporciona, entre otras cosas, composiciones y métodos para tratar el cáncer. En un aspecto, el cáncer es un cáncer hematológico que incluye, sin carácter limitante, leucemia (tal como leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfoide aguda, leucemia linfoide crónica y síndrome mielodisplásico) y afecciones linfoproliferativas malignas, que incluyen el linfoma (tal como mieloma múltiple, linfoma no hodgkiniano, linfoma de Burkitt y linfoma folicular microcítico y macrocítico).

35 La presente divulgación también proporciona composiciones y métodos para inhibir la proliferación o reducir una población de células que expresan CD123. Un método a modo de ejemplo incluye poner en contacto una población de células que comprenden una célula que expresa CD123 con una célula CART CD123 de la invención que se une a la célula que expresa CD123. En un aspecto específico, la presente divulgación proporciona métodos para inhibir la proliferación o reducir la población de células cancerosas que expresan CD123, comprendiendo los métodos poner en contacto la población de células cancerosas que expresan CD123 con una célula CART CD123 de la invención que se une a las células cancerosas que expresan CD123. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para inhibir la proliferación o reducir la población de células cancerosas que expresan CD123, comprendiendo los métodos poner en contacto la población de células cancerosas que expresan CD123 con una célula CART CD123 de la invención que se une a las células que expresan CD123. En determinados aspectos, la célula CART CD123 de la invención reduce la cantidad, el número, la cantidad o el porcentaje de células y/o células cancerosas en al menos un 25%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 65%, al menos un 75%, al menos un 85%, al menos un 95% o al menos un 99% en un sujeto con o modelo animal para leucemia mieloide u otro cáncer asociado con células que expresan CD123 con relación a un control negativo. En un aspecto, el sujeto es un ser humano.

50 La presente divulgación también proporciona métodos para prevenir, tratar y/o gestionar un trastorno asociado con células que expresan CD123 (p. ej., un cáncer hematológico), comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite una célula CART CD123 de la invención que se une a la célula que expresa CD123. En un aspecto, el sujeto es un ser humano. Ejemplos no limitantes de trastornos asociados con las células que expresan CD123 incluyen trastornos autoinmunitarios (tales como lupus), trastornos inflamatorios (tales como alergias y asma) y cánceres (tales como cánceres hematológicos).

55 La presente divulgación también proporciona métodos para prevenir, tratar y/o gestionar una enfermedad asociada con células que expresan CD123, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite una célula CART CD123 de la invención que se une a la célula que expresa CD123. En un aspecto, el sujeto es un ser humano. Ejemplos no limitantes de enfermedades asociadas con células que expresan CD123 incluyen leucemia mieloide aguda (AML), mielodisplasia, leucemia linfoide aguda de células B, leucemia linfoide aguda de células T, leucemia de células pilosas, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin y similares.

65 La presente divulgación proporciona métodos para prevenir la recaída del cáncer asociado con células que expresan CD123, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite una célula CART CD123 de la invención que se une a la célula que expresa CD123. En otro aspecto, los métodos comprenden administrar al sujeto que lo

necesite una cantidad eficaz de una célula CART CD123 de la invención que se une a la célula que expresa CD123 en combinación con una cantidad eficaz de otra terapia.

5 En un aspecto, se considera que CD123 es un marcador de "células madre cancerosas" en la AML. Por lo tanto, una célula CART CD123 de la invención puede prevenir la recaída de la AML, o incluso tratar la AML que es mayoritariamente negativa para CD123 pero con una población "madre" de células que expresan CD123.

10 En un aspecto, la divulgación proporciona composiciones y métodos para tratar una enfermedad o trastorno que es negativo para CD19 y positivo para CD123. En otro aspecto, la divulgación proporciona composiciones y métodos para tratar una enfermedad o trastorno en los que parte del tumor es negativa para CD19 y positiva para CD123. Por ejemplo, una célula CART123 que comprende un CAR de la invención puede ser útil para tratar sujetos que se han sometido a tratamiento por una enfermedad o un trastorno asociado con niveles elevados de expresión de CD19, en donde el sujeto que ha recibido tratamiento por niveles elevados de CD19 presenta una enfermedad o trastorno asociado con niveles elevados de CD123.

15 En un aspecto, la leucemia linfocítica aguda (ALLA) de células B es un ejemplo de una fijación de objetivo en serie utilizando células CART que comprenden un CAR. Por ejemplo, el tratamiento con CART19 a veces puede dar como resultado una recaída para CD19-negativa, que puede tratarse con células CART123 de la invención. Alternativamente, la presente invención incluye la fijación de objetivo dual de BALL utilizando células CART que comprenden un CAR anti-CD19 y un CAR anti-CD123.

Ablación de Médula Ósea

25 En un aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones y métodos para la ablación de médula ósea. Por ejemplo, en un aspecto, la divulgación proporciona composiciones y métodos para la erradicación de al menos una parte de la médula ósea existente en un sujeto. En esta memoria se describe que, en determinados casos, las células CART 123 que comprenden un CAR CD123 de la presente invención erradica las células progenitoras mieloides de médula ósea CD123. positivas

30 En un aspecto, la divulgación proporciona un método de ablación de la médula ósea, que comprende administrar una célula CAR T CD123 de la invención a un sujeto que necesita una ablación de la médula ósea. Por ejemplo, el presente método se puede utilizar para erradicar parte o la totalidad de la médula ósea de un sujeto que padece una enfermedad o trastorno en el que el trasplante de médula ósea o reacondicionamiento de médula ósea es una estrategia de tratamiento beneficiosa. En un aspecto, el método de ablación de médula ósea de la divulgación, que comprende la administración de una célula CAR T CD123 descrita en otra parte de esta memoria, se realiza en un sujeto antes del trasplante de médula ósea. Por lo tanto, en un aspecto, el método de la divulgación proporciona una pauta de acondicionamiento celular antes del trasplante de médula ósea o de células madre. En un aspecto, el trasplante de médula ósea comprende el trasplante de una célula madre. El trasplante de médula ósea puede comprender trasplante de células autólogas o alogénicas.

40 La presente divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno, que comprende administrar una célula CAR T CD123 de la invención para erradicar al menos una parte de la médula ósea existente. El método se puede utilizar como al menos una porción de una pauta de tratamiento para tratar cualquier enfermedad o trastorno donde el trasplante de médula ósea es beneficioso. Es decir, el método de la presente se puede utilizar en cualquier sujeto que necesite un trasplante de médula ósea. En un aspecto, la ablación de la médula ósea que comprende la administración de una célula CAR T CD123 es útil en el tratamiento de la AML. En determinados aspecto, la ablación de médula ósea según el presente método es útil para tratar un cáncer hematológico, un tumor sólido, una enfermedad hematológica, un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno por almacenamiento lisosomal y una inmunodeficiencia.

50 Composiciones y métodos descritos en esta memoria se pueden utilizar para erradicar al menos una parte de la médula ósea existente para tratar cánceres hematológicos que incluyen, pero no se limitan a leucemia, linfoma, mieloma, ALL, AML, CLL, CML, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin y mieloma múltiple.

55 Las composiciones y los métodos divulgados en esta memoria se pueden utilizar para tratar enfermedades hematológicas que incluyen, sin carácter limitante, mielodisplasia, anemia, hemoglobinuria nocturna paroxística, anemia aplásica, anemia de glóbulos rojos pura adquirida, anemia de Diamond-Blackfan, anemia de Fanconi, citopenia, trombocitopenia amegacariocítica, trastornos mieloproliferativos, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis, hemoglobinopatías, anemia de células falciformes, talasemia β mayor, entre otros.

60 Las composiciones y los métodos divulgados en en esta memoria se pueden utilizar para tratar trastornos por almacenamiento lisosomal que incluyen, sin carácter limitante, lipidosis, esfingolipidosis, leucodistrofias, mucopolisacaridosis, glucoproteinosis, lipofuscinosis ceroide neuronal infantil, enfermedad de Jansky-Bielschowsky, enfermedad de Niemann-Pick, enfermedad de Gaucher, adrenoleucodistrofia, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Krabbe, síndrome de Hurler, síndrome de Scheie, síndrome de Hurler-Scheie, síndrome de Hunter,

65

síndrome de Sanfilippo, síndrome de Morquio, síndrome de Maroteaux-Lamy, síndrome de Sly, mucopolidosis, fucopolidosis, aspartilglucosaminuria, alfa-manosidosis y enfermedad de Wolman.

Las composiciones y los métodos divulgados en la presente se pueden utilizar para tratar inmunodeficiencias que incluyen, sin carácter limitante, deficiencias de células T, deficiencias combinadas de células T y linfocitos B, trastornos de los fagocitos, enfermedades por desregulación inmunitaria, deficiencias inmunitarias innatas, ataxia telangiectasia, síndrome de DiGeorge, inmunodeficiencia combinada grave (SCID), síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de Kostmann, síndrome de Shwachman-Diamond, síndrome de Griscelli y deficiencia del modulador esencial de NF-Kappa-B (NEMO).

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento del cáncer, que comprende el acondicionamiento de la médula ósea, en que al menos una parte de la médula ósea del sujeto es erradicada por la célula CAR T CD123 de la invención. Por ejemplo, en determinados casos, la médula ósea del sujeto comprende una célula precursora maligna que puede ser fijada como objetivo y eliminada por la actividad de la célula CAR T CD123. En un aspecto, una terapia de acondicionamiento de la médula ósea comprende administrar un trasplante de médula ósea o células madre al sujeto tras la erradicación de la médula ósea nativa. En un aspecto, la terapia de reacondicionamiento de la médula ósea se combina con una o más de otras terapias contra el cáncer que incluyen, sin carácter limitante, terapias CAR antitumorales, quimioterapia, radiación y similares.

En un aspecto, puede requerirse la erradicación de las células CART CD123 administradas antes de la infusión de médula ósea o trasplante de células madre. La erradicación de las células CART CD123 puede lograrse utilizando cualquier estrategia o tratamiento adecuado, incluyendo, pero no limitado al uso de un gen suicida, persistencia limitada de CAR utilizando CARs codificados por ARN o modalidades anti-células T que incluyen anticuerpos o quimioterapia.

Aplicación Terapéutica

En un aspecto, un vector que comprende un CAR CD123 puede enlazarse operativamente al promotor para la expresión en células T de mamífero. En un aspecto, la divulgación proporciona una célula T recombinante que expresa el CAR CD123 para uso en el tratamiento de tumores que expresan CD123, en donde la célula T recombinante que expresa el CAR CD123 se denomina CART CD123. En un aspecto, el CART CD123 de la invención es capaz de poner en contacto una célula tumoral con al menos un CAR CD123 de la invención expresado en su superficie de manera que el CART CD123 se activa en respuesta al antígeno y el CART fija como objetivo la célula tumoral y se inhibe el crecimiento del tumor.

En un aspecto, la divulgación pertenece a un método para inhibir el crecimiento de una célula tumoral que expresa CD123, que comprende poner en contacto la célula tumoral con una célula CART anti-CD123 descrita en esta memoria de manera que el CART se active en respuesta al antígeno y fija como objetivo la célula cancerosa, en donde se inhibe el crecimiento del tumor.

En otro aspecto, la divulgación pertenece a un método para tratar el cáncer en un sujeto. El método comprende administrar al sujeto una célula CART anti-CD123 de la presente invención de manera que el cáncer sea tratado en el sujeto. Un ejemplo de un cáncer que es tratable por las células CART anti-CD123 de la invención incluye, pero no se limita a AML, síndrome mielodisplásico, ALL, leucemia de células pilosas, leucemia prolinfocítica, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin, plasmacitoide dendrítico blástico, neoplasias celulares y similares.

Se describe un tipo de terapia celular en que células T se modifican genéticamente para expresar un receptor de antígeno quimérico (CAR) y la célula CAR T se infunde a un receptor que lo necesita. La célula infundida es capaz de provocar la muerte de células tumorales en el receptor. En algunas realizaciones, las células T modificadas con CAR son capaces de replicarse *in vivo*, dando como resultado una persistencia a largo plazo que puede conducir a un control tumoral sostenido. En diversos aspectos, las células T administradas al paciente, o su progenie, persisten en el paciente durante al menos cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, diez meses, once meses, doce meses, trece meses, catorce meses, quince meses, dieciséis meses, diecisiete meses, dieciocho meses, diecinueve meses, veinte meses, veintiún meses, veintidós meses, veintitrés meses, dos años, tres años, cuatro años o cinco años después de la administración de la célula T al paciente.

Se describe un tipo de terapia celular en la que células T se modifican, p. ej., mediante ARN transcrito *in vitro*, para expresar transitoriamente un receptor de antígeno quimérico (CAR) y la célula CART se infunde a un receptor que lo necesite. La célula infundida es capaz de provocar la muerte de células tumorales en el receptor. Por lo tanto, en diversos aspectos, las células T administradas al paciente están presentes durante menos de un mes, p. ej., tres semanas, dos semanas, una semana, después de la administración de las células T al paciente.

Sin desear estar ligado a teoría particular alguna, la respuesta de inmunidad antitumoral provocada por las células T modificadas con CAR puede ser una respuesta inmunitaria activa o pasiva. En otro aspecto, las células T transducidas con CAR exhiben secreción de citocinas proinflamatorias específicas y actividad citolítica potente en respuesta a

5 células cancerosas humanas que expresan CD123, resisten la inhibición de CD123 soluble, median en la muerte de observadores y median en la regresión de un tumor humano establecido. Por ejemplo, las células tumorales sin antígeno dentro de un campo heterogéneo de tumor que expresa CD123 pueden ser susceptibles de destrucción indirecta por células T redirigidas a CD123 que han reaccionado previamente contra células cancerosas positivas para antígeno adyacentes.

10 En un aspecto, el método de la divulgación proporciona la erradicación de al menos una parte de la médula ósea existente de un sujeto. Tal como se describe en esta memoria, en determinados casos, la célula CART CD123 de la invención erradica las células progenitoras mieloides de la médula ósea que expresan CD123. Por lo tanto, puede utilizarse como un régimen de acondicionamiento celular para la ablación de al menos una parte de la médula ósea existente antes del trasplante de médula ósea. El método se puede utilizar para tratar cualquier enfermedad o trastorno en el que el trasplante de médula ósea sea beneficioso o necesario, que incluye, pero no se limita a un cáncer hematológico, un tumor sólido, una enfermedad hematológica, un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno de almacenamiento lisosómico, y una inmunodeficiencia.

15 En un aspecto, las células T completamente humanas modificadas con CAR de la invención pueden ser un tipo de vacuna para inmunización *ex vivo* y/o terapia *in vivo* en un mamífero. En un aspecto, el mamífero es un ser humano.

20 Con respecto a la inmunización *ex vivo*, ocurre al menos una de las siguientes *in vitro* antes de administrar la célula a un mamífero: i) expansión de las células, ii) introducción de un ácido nucleico que codifica un CAR en las células o iii) criopreservación de las células.

25 Los procedimientos *ex vivo* son bien conocidos en la técnica y se analizan en más detalle más adelante. En síntesis, las células se aíslan de un mamífero (p. ej., un ser humano) y se modifican genéticamente (p. ej., transducidas o transfectadas *in vitro*) con un vector que expresa un CAR descrito en esta memoria. La célula modificada con CAR se puede administrar a un receptor mamífero para proporcionar un beneficio terapéutico. El receptor mamífero puede ser un ser humano y la célula modificada con CAR puede ser autóloga con respecto al receptor. Como alternativa, las células pueden ser alogénicas, singénicas o xenogénicas con respecto al receptor.

30 El procedimiento para la expansión *ex vivo* de células madre y progenitoras hematopoyéticas se describe en la Pat. de EE.UU. N° 5.199.942, se puede aplicar a las células de la presente invención. En la técnica existe constancia de otros métodos adecuados, por lo tanto, la presente invención no se limita a ningún método particular de expansión *ex vivo* de las células. Brevemente, el cultivo y la expansión *ex vivo* de células T comprende: (1) recoger células progenitoras y células madre hematopoyéticas CD34+ de un mamífero a partir de la extracción de sangre periférica o explantes de médula ósea; y (2) expandir tales células *ex vivo*. Además de los factores de crecimiento celular descritos en la Pat. de EE.UU. N° 5.199.942, se pueden utilizar otros factores, tales como flt3-L, IL-1, IL-3 y ligando c-kit, para el cultivo y la expansión de las células.

40 Además de utilizar una vacuna basada en células en lo que se refiere a la inmunización *ex vivo*, la presente divulgación también proporciona composiciones y métodos para la inmunización *in vivo* para provocar una respuesta inmune dirigida contra un antígeno en un paciente.

45 Por lo general, las células activadas y expandidas tal como se describe en la presente se pueden utilizar en el tratamiento y la prevención de enfermedades que surgen en individuos que están inmunocomprometidos. En particular, las células T modificadas con CAR de la invención se utilizan en el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones asociados con la expresión de CD123. En determinados aspectos, las células de la invención se utilizan en el tratamiento de pacientes con riesgo de desarrollar enfermedades, trastornos y afecciones asociados con la expresión de CD123. Por tanto, la presente divulgación proporciona métodos para el tratamiento o la prevención de enfermedades, trastornos y afecciones asociados con la expresión de CD123, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de las células T modificadas con CAR de la invención. Un ejemplo de enfermedades, trastornos y afecciones asociados con la expresión de CD123 incluye, pero no se limita a AML, síndrome mielodisplásico, ALL, leucemia de células pilosas, leucemia prolinfocítica, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas, y similares.

55 Una célula T modificada con CAR de la presente invención puede administrarse sola o como una composición farmacéutica en combinación con diluyentes y/o con otros componentes, tales como IL-2 u otras citoquinas o poblaciones celulares.

60 La presente divulgación también proporciona métodos para inhibir la proliferación o reducir una población de células que expresan CD123, comprendiendo los métodos poner en contacto una población de células que comprenden una célula que expresa CD123 con una célula CARTCD123 descrita en esta memoria que se une a la célula que expresa CD123. En un aspecto específico, la presente divulgación proporciona métodos para inhibir la proliferación o reducir la población de células cancerosas que expresan CD123, comprendiendo los métodos poner en contacto la población de células cancerosas que expresan CD123 con una célula CARTCD123 descrita en esta memoria que se une a las células cancerosas que expresan CD123. En un aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para inhibir la

proliferación o reducir la población de células cancerosas que expresan CD123, comprendiendo los métodos poner en contacto la población de células cancerosas que expresan CD123 con una célula CARTCD123 de la invención que se une a las células que expresan CD123. En determinados aspectos, la célula CART CD123 de la invención reduce la cantidad, el número, la cantidad o el porcentaje de células y/o células cancerosas en al menos un 25%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 65%, al menos un 75%, al menos un 85%, al menos un 95% o al menos un 99% en un sujeto con o modelo animal para un cáncer asociado con células que expresan CD123 con relación a un control negativo. En un aspecto, el sujeto es un ser humano.

La presente divulgación también proporciona métodos para prevenir, tratar y/o gestionar una enfermedad asociada con las células que expresan CD123 (p. ej., AML, síndrome mielodisplásico, ALL, leucemia de células pilosas, leucemia prolinfocítica, leucemia mieloide crónica, linfoma de Hodgkin, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas, entre otros), comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite una célula CARTCD123 descrita en esta memoria que se une a la célula que expresa CD123. En un aspecto, el sujeto es un ser humano.

La presente divulgación proporciona métodos para prevenir la recaída del cáncer asociado con células que expresan CD123, comprendiendo los métodos administrar a un sujeto que lo necesite una célula CARTCD123 descrita en esta memoria que se une a la célula que expresa CD123. En un aspecto, los métodos comprenden administrar al sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de una célula CARTCD123 descrita en esta memoria que se une a la célula que expresa CD123 en combinación con una cantidad eficaz de otra terapia. En un aspecto, el sujeto sufre o es susceptible de recaída después de la terapia con CD19, por ejemplo, la terapia con una CART CD19.

Terapias combinadas

Se puede utilizar una célula que expresa CAR descrita en esta memoria combinada con otros agentes y terapias conocidos. La expresión administrado «en combinación», tal como se utiliza en esta memoria, significa que se suministran dos (o más) tratamientos diferentes al sujeto durante el curso de la afección del sujeto con el trastorno, p. ej., se suministran los dos o más tratamientos después de que el sujeto haya sido diagnosticado con el trastorno y antes de que el trastorno haya sido curado o eliminado o el tratamiento haya cesado por otras razones. En algunas realizaciones, el suministro de un tratamiento todavía está ocurriendo cuando comienza el suministro del segundo, de modo que hay una superposición en lo que se refiere a la administración. Esto a veces se denomina en la presente "suministro simultáneo" o "suministro concurrente". En otras realizaciones, el suministro de un tratamiento finaliza antes de que comience el suministro del otro tratamiento. En algunas realizaciones de cualquier caso, el tratamiento es más eficaz debido a la administración combinada. Por ejemplo, el segundo tratamiento es más efectivo, por ejemplo, se observa un efecto equivalente con menos del segundo tratamiento, o el segundo tratamiento reduce los síntomas en mayor medida, de lo que se observaría si el segundo tratamiento se administrara en ausencia del primer tratamiento, o se observa una situación análoga con el primer tratamiento. En algunas realizaciones, el suministro es tal que la reducción en un síntoma u otro parámetro relacionado con el trastorno es mayor de lo que se observaría cuando se suministra un tratamiento en ausencia del otro. El efecto de los dos tratamientos puede ser parcialmente aditivo, totalmente aditivo o más que aditivo. El suministro puede ser tal que un efecto del primer tratamiento suministrado aún sea detectable cuando se suministra el segundo.

Una célula que expresa CAR descrita en esta memoria y el al menos un agente terapéutico adicional se pueden administrar simultáneamente, en las mismas composiciones o en composiciones separadas, o secuencialmente. Para la administración secuencial, la célula que expresa el CAR descrita en esta memoria se puede administrar primero, y el agente adicional puede administrarse en segundo lugar, o el orden de administración se puede invertir.

En aspectos adicionales, una célula que expresa CAR descrita en esta memoria puede utilizarse en un régimen de tratamiento en combinación con cirugía, quimioterapia, radiación, agentes inmunosupresores, tales como ciclosporina, azatioprina, metotrexato, micofenolato y FK506, anticuerpos u otros agentes inmunoblavantes, tales como CAMPATH, anticuerpos anti-CD3 u otras terapias con anticuerpos, citoxina, fludarabina, ciclosporina, FK506, rapamicina, ácido micofenólico, esteroides, FR901228, citocinas e irradiación.

La célula que expresa CAR descrita en esta memoria se puede utilizar en combinación con un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos generales considerados para su uso en terapias combinadas incluyen anastrozol (Arimidex®), bicalutamida (Casodex®), sulfato de bleomicina (Blenoxane®), busulfán (Myleran®), inyección de busulfán (Busulfex®), capecitabina (Xeloda®), N-4-pentoxicarbonil-5-desoxi-5-fluorocitidina, carboplatino (Paraplatin®), carmustina (BiCNU®), clorambucilo (Leukeran®), cisplatino (Platinol®), cladribina (Leustatin®), ciclofosfamida (Cytosan® o Neosar®), citarabina, arabinósido de citosina (Cytosar-U®), inyección de liposomas de citarabina (DepoCyt®), dacarbazina (DTIC-Dome®), dactinomicina (Actinomomicina D, Cosmegán), clorhidrato de daunorubicina (Cerubidine®), inyección de liposomas de citrato de daunorubicina (DaunoXome®), dexametasona, docetaxel (Taxotere®), clorhidrato de doxorubicina (Adriamycin®, Rubex®), etopósido (Vepesid®), fosfato de fludarabina (Fludara®), 5-fluorouracilo (Adrucil®, Efudex®), flutamida (Eulexin®), tezacicitabina, Gemcitabina (difluorodesoxicitidina), hidroxiurea (Hydrea®), Idarubicina (Idamycin®), ifosfamida (IFEX®), irinotecán (Camptosar®), L-asparaginasa (ELSPAR®), leucovorina cálcica, melfalán (Alkeran®), 6-mercaptopurina (Purinethol®), metotrexato (Folex®), mitoxantrona (Novantrone®), milotarg, paclitaxel (Taxol®), fénix (Itrio90/MX-DTPA), pentostatina, polifeprosano 20 con implante de carmustina (Gliadel®), citrato de tamoxifeno (Nolvadex®), tenipósido (Vumon®), 6-

tioguanina, tiotepa, tirapazamina (Tirazone®), clorhidrato de topotecán para inyección (Hycamptin®), vinblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®) y vinorelbina (Navelbine®).

5 Agentes quimioterapéuticos a modo de ejemplo incluyen una antraciclina, un antimetabolito y anticuerpos fijados como objetivo, p. ej., un anticuerpo anti-CD33 tal como gemtuzumab.

10 Antimetabolitos a modo de ejemplo incluyen, sin limitación, antagonistas del ácido fólico (a los que también se alude en esta memoria como antifolatos), análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de la adenosina desaminasa): metotrexato (Rheumatrex®, Trexall®), 5-fluorouracilo (Adrucil®, Efudex®, Fluoroplex®), floxuridina (FUDF®), citarabina (Cytosar-U®, Tarabine PFS), 6-mercaptopurina (Puri-Nethol®), 6-tioguanina (Thioguanine Tabloid®), fosfato de fludarabina (Fludara®), pentostatina (Nipent®), pemetrexed (Alimta®), raltitrexed (Tomudex®), cladribina (Leustatin®), clofarabina (Clofarex®, Clolar®), mercaptopurina (Puri-Nethol®), capecitabina (Xeloda®), nelarabina (Arranon®), azacitidina (Vidaza®) y gemcitabina (Gemzar®). Antimetabolitos preferidos incluyen, p. ej., 5-fluorouracilo (Adrucil®, Efudex®, Fluoroplex®), floxuridina (FUDF®), capecitabina (Xeloda®), pemetrexed (Alimta®), raltitrexed (Tomudex®) y gemcitabina (Gemzar®).

20 Antraciclinas a modo de ejemplo incluyen, sin limitación, daunorrubicina (Cerubidine®, Rubidomycin®), doxorubicina (Adriamycin®), epirubicina (Ellence®), idarubicina (Idamycin®), mitoxantrona (Novantrone®), valrubicina (Valstar®). Antraciclinas preferidas incluyen daunorrubicina (Cerubidine®, Rubidomycin®) y doxorubicina (Adriamycin®).

25 También se pueden utilizar fármacos que inhiben ya sea la fosfatasa dependiente de calcio calcineurina (ciclosporina y FK506) o inhiben la quinasa p70S6 que es importante para la señalización inducida por el factor de crecimiento (rapamicina) (Liu et al., Cell 66:807-815, 1991; Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993). En un aspecto adicional, las composiciones celulares de la presente invención se pueden administrar a un paciente junto con (p. ej., antes, simultáneamente o después) el trasplante de médula ósea, terapia ablativa con células T utilizando agentes de quimioterapia, tales como fludarabina, radioterapia externa (XRT), ciclofosfamida y/o anticuerpos, tales como OKT3 o CAMPATH. En un aspecto, las composiciones celulares de la presente invención se administran después de una terapia ablativa de linfocitos B tal como agentes que reaccionan con CD20, por ejemplo, Rituxan. Por ejemplo, en una realización, los sujetos se pueden someter a un tratamiento estándar con una dosis elevada de quimioterapia seguida del trasplante de células madre de la sangre periférica. En determinadas realizaciones, después del trasplante, los sujetos reciben una infusión de las células inmunitarias expandidas de la presente invención. En una realización adicional, las células expandidas se administran antes o después de la cirugía.

35 En una realización, al sujeto se le puede administrar un agente que reduce o mejora un efecto secundario asociado con la administración de una célula que expresa CAR. Los efectos secundarios asociados con la administración de una célula que expresa CAR incluyen, sin carácter limitante, CRS y la linfocitosis hemofagocítica (HLH, por sus siglas en inglés), también denominada Síndrome de Activación de Macrófagos (MAS, por sus siglas en inglés). Los síntomas de CRS incluyen fiebre alta, náuseas, hipotensión transitoria, hipoxia y similares. Por consiguiente, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender administrar una célula que expresa CAR descrita en esta memoria a un sujeto y administrar además un agente para gestionar niveles elevados de un factor soluble resultante del tratamiento con una célula que expresa CAR. En una realización, el factor soluble elevado en el sujeto es uno o más de IFN- γ , TNF α , IL-2 e IL-6. Por tanto, un agente administrado para tratar este efecto secundario puede ser un agente que neutralice uno o más de estos factores solubles. Agentes de este tipo incluyen, pero no se limitan a un esteroide, un inhibidor de TNF α y un inhibidor de IL-6. Un ejemplo de un inhibidor de TNF α es entanercept. Un ejemplo de un inhibidor de IL-6 es Tocilizumab (toc).

50 En una realización, al sujeto se le puede administrar un agente que potencie la actividad de una célula que expresa CAR. Por ejemplo, en una realización, el agente puede ser un agente que inhibe una molécula inhibidora. Las moléculas inhibidoras, p. ej., muerte programada 1 (PD1), pueden, en algunas realizaciones, disminuir la capacidad de una célula que expresa CAR de organizar una respuesta efectora inmunitaria. Ejemplos de moléculas inhibidoras incluyen PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y TGFR beta. La inhibición de una molécula inhibidora, p. ej., mediante inhibición a nivel de ADN, ARN o proteína, puede optimizar el rendimiento de una célula que expresa CAR. En realizaciones, un ácido nucleico inhibidor, p. ej., un ácido nucleico inhibidor, p. ej., un ARNdc, por ejemplo, un ARNip o ARNsh, puede utilizarse para inhibir la expresión de una molécula inhibidora en la célula que expresa CAR. En una realización, el inhibidor es un ARNhc. En una realización, la molécula inhibidora es inhibida dentro de una célula que expresa CAR. En estas realizaciones, una molécula de ARNbc que inhibe la expresión de la molécula inhibidora está enlazada al ácido nucleico que codifica un componente, por ejemplo, todos los componentes del CAR. En una realización, el inhibidor de una señal inhibidora puede ser, p. ej., un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a una molécula inhibidora. Por ejemplo, el agente puede ser un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a PD1, PD-L1, PD-L2 o CTLA4 (p. ej., Ipilimumab (al que también se alude como MDX-010 y MDX-101, CAS No. 477202-00-9 y comercializado como Yervoy®; Bristol-Myers Squibb; Tremelimumab (anticuerpo monoclonal IgG2 disponible de Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675,206).

65

PD1 es un miembro inhibidor de la familia de receptores CD28 que también incluye CD28, CTLA-4, ICOS y BTLA. PD-1 se expresa en células B activadas, células T y células mieloides (Agata et al. 1996 Int. Immunol 8: 765-75). Se ha demostrado que dos ligandos para PD1, PD-L1 y PD-L2 regulan a la baja la activación de las células T al unirse a PD1 (Freeman et al. 2000 J Exp Med 192:1027-34; Latchman et al. 2001 Nat Immunol 2:261-8; Carter et al. 2002 Eur J Immunol 32:634-43). PD-L1 es abundante en cánceres humanos (Dong et al. 2003 J Mol Med 81:281-7; Blank et al. 2005 Cancer Immunol. Immunother 54:307-314; Konishi et al. 2004 Clin Cancer Res 10:5094). La supresión inmunitaria puede invertirse inhibiendo la interacción local de PD1 con PD-L1. En la técnica se puede disponer de anticuerpos, fragmentos de anticuerpo y otros inhibidores de PD-1, PD-L1 y PD-L2, y estos se pueden utilizar combinados con un CAR CD123 descrito en esta memoria. Por ejemplo, nivolumab (al que también se alude como BMS-936558 o MDX1106; Bristol-Myers Squibb) es un anticuerpo monoclonal IgG4 completamente humano que bloquea de manera específica PD-1. Nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se describen en los documentos US 8.008.449 y WO2006/121168. Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD-1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD1 humanizados se describen en el documento WO2009/101611. Lambrolizumab (también conocido como MK03475; Merck) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD1. Lambrolizumab y otros anticuerpos anti-PD1 humanizados se describen en los documentos US 8.354.509 y WO2009/114335. MDPL3280A (Genentech / Roche) es un anticuerpo monoclonal IgG1 optimizado para Fc humano que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos contra PD1 se describen en la Patente de EE.UU. Nº 7.943.743 y la Publicación de EE.UU. Nº: 20120039906. Otros agentes de unión anti-PD-L1 incluyen YW243.55.S70 (las regiones variables de la cadena pesada y ligera se muestran en las SEQ ID NO 20 y 21 en el documento WO2010/077634) y MDX-1105 (al que también se alude como BMS-936559 y, p. ej., agentes de unión anti-PD-L1 descritos en el documento WO2007/005874). AMP-224 (B7-DClg; Amplimmune; p. ej., descritos en los documentos WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor soluble de fusión PD-L2 Fc que bloquea la interacción entre PD1 y B7-H1. Otros anticuerpos anti-PD1 incluyen AMP 514 (Amplimmune), entre otros, p. ej., anticuerpos anti-PD1 descritos en los documentos US 8.609.089, US 2010028330, y/o US 20120114649. El agente que potencia la actividad de una célula que expresa CAR puede ser, p. ej., una proteína de fusión que comprende un primer dominio y un segundo dominio, en donde el primer dominio es una molécula inhibidora, o fragmento de la misma, y el segundo dominio es un polipéptido que está asociado con una señal positiva, p. ej., el polipéptido que está asociado con una señal positiva es CD28, ICOS y sus fragmentos, p. ej., un dominio de señalización intracelular de CD28 y/o ICOS. En una realización, la proteína de fusión es expresada por la misma célula que expresó el CAR. En otra realización, la proteína de fusión es expresada por una célula, p. ej., una célula T que no expresa un CAR anti-CD123/CD123.

Composiciones farmacéuticas y tratamientos

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden comprender una célula que expresa CAR, p. ej., una pluralidad de células que expresan CAR, tal como se describe en esta memoria, en combinación con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables. Composiciones de este tipo pueden comprender un tampón tal como solución salina tamponada neutra, solución salina tamponada con fosfato y similares; hidratos de carbono, tal como glucosa, manosa, sacarosa o dextranos, manitol; proteínas; polipéptidos o aminoácidos tales como glicina; antioxidantes; agentes quelantes, tales como EDTA o glutatión; adyuvantes (p. ej., hidróxido de aluminio); y conservantes. Las composiciones de la presente divulgación están formuladas en un aspecto para la administración intravenosa.

Composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se pueden administrar de una manera apropiada para la enfermedad que se ha de tratar (o prevenir). La cantidad y la frecuencia de la administración estarán determinadas por factores tales como el estado del paciente y el tipo y la gravedad de la enfermedad del paciente, aunque se pueden determinar las dosificaciones apropiadas mediante ensayos clínicos.

En una realización, la composición farmacéutica está sustancialmente exenta de, p. ej. no hay niveles detectables de un contaminante, p. ej., seleccionado del grupo constituido por endotoxina, micoplasma, lentivirus competente para la replicación (RCL), p24, ácido nucleico de VSV-G, gag de HIV, perlas residuales recubiertas anti-CD3/anti-CD28, anticuerpos de ratón, suero humano combinado, albúmina de suero bovino, suero bovino, componentes de medios de cultivo, componentes de plásmidos o células de empaquetamiento de vectores, una bacteria y un hongo. En una realización, la bacteria es al menos una seleccionada del grupo consistente en *Alcaligenes faecalis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y grupo A de *Streptococcus pyogenes*.

Cuando se indica "una cantidad inmunológicamente eficaz", "una cantidad eficaz antitumoral", "una cantidad eficaz inhibidora de tumores" o "cantidad terapéutica", se puede determinar la cantidad precisa de las composiciones de la presente invención a administrar por un médico teniendo en cuenta las diferencias individuales en edad, peso, tamaño del tumor, extensión de la infección o metástasis y condición del paciente (sujeto). Por lo general, se puede afirmar que una composición farmacéutica que comprende las células T descritos en esta memoria se puede administrar a una dosis de 10^4 a 10^9 células/kg de peso corporal, en algunos casos 10^5 a 10^6 células/kg de peso corporal, incluyendo todos los valores de números enteros dentro de esos intervalos. Las composiciones de células T también se pueden

administrar múltiples veces con estas dosificaciones. Las células se pueden administrar utilizando técnicas de infusión que se conocen comúnmente en inmunoterapia (véase, *p. ej.*, Rosenberg et al., *New Eng. J. of Med.* 319:1676, 1988).

En determinados aspectos, puede resultar deseable administrar células T activadas a un sujeto y posteriormente volver a extraer sangre (o realizar una aféresis), activar células T de esta de acuerdo con la presente invención, y reinfundir al paciente estas células T activadas y expandidas. Este proceso se puede llevar a cabo múltiples veces cada pocas semanas. En determinados aspectos, los células T se pueden activar a partir de extracciones de sangre de 10 cc a 400 cc. En determinados aspectos, los células T se activan a partir de extracciones de sangre de 20cc, 30cc, 40cc, 50cc, 60cc, 70cc, 80cc, 90cc o 100cc.

La administración de las composiciones objeto se puede llevar a cabo de cualquier manera conveniente, que incluye la inhalación por aerosol, inyección, ingestión, transfusión, implante o trasplante. Las composiciones descritas en esta memoria pueden administrarse a un paciente por vía transarterial, subcutánea, intradérmica, intratumoral, intranodal, intramedular, intramuscular, mediante inyección intravenosa (i.v.) o intraperitoneal. En un aspecto, las composiciones de células T de la presente invención se administran a un paciente mediante inyección intradérmica o subcutánea. En otro aspecto, las composiciones de células T de la presente invención se administran por vía inyección *i.v.* Las composiciones de células T pueden inyectarse directamente en un tumor, ganglio linfático o sitio de infección.

En un aspecto particular a modo de ejemplo, los sujetos pueden sufrir leucocitaféresis, en donde los leucocitos se recogen, se enriquecen o se agotan *ex vivo* para seleccionar y/o aislar las células de interés, *p. ej.*, células T. Estos aislados de células T pueden expandirse mediante métodos conocidos en la técnica y tratarse de tal manera que se puedan introducir una o más construcciones CAR de la invención, creando así una célula T CAR de la invención. Los sujetos que lo necesiten se pueden someter posteriormente a un tratamiento estándar con una dosis elevada de quimioterapia seguida de trasplante de células madre de la sangre periférica. En determinados aspectos, después o de forma concomitante con el trasplante, los sujetos reciben una infusión de las células CAR T expandidas de la presente invención. En un aspecto adicional, las células expandidas se administran antes o después de la cirugía.

La dosificación de los tratamientos anteriores que se va a administrar a un paciente variará según la naturaleza precisa de la afección que se esté tratando y el receptor del tratamiento. El escalado de las dosificaciones para la administración a seres humanos se puede realizar de acuerdo con las prácticas aceptadas en la técnica.

EJEMPLOS EXPERIMENTALES

Los siguientes ejemplos se proporcionan solo con fines ilustrativos y no pretenden ser limitantes a menos que se especifique lo contrario.

Ejemplo 1: Células T Modificadas con Receptor de Antígeno Quimérico Anti-CD 123 para AML

La mayoría de los pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) son incurables con la terapia estándar. Sin desear estar ligado a teoría alguna particular, se cree que la terapia con células CART exitosa se basa en una molécula adecuada de la superficie celular. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha encontrado antígeno de superficie específico de AML alguno, ya que muchos antígenos se comparten entre células mieloides inmaduras y blastos de AML.

CD123, la cadena alfa transmembrana del receptor de IL-3, se expresa en la mayoría de las muestras primarias de AML (Jordan, 2010, *Science Translational Medicine*, 2:31ps21; Jin et al, 2009, *Cell Stem Cell*, 5:31-42; Munoz et al, 2001, *Haematologica*, 86:1261-1269), y una alta expresión de CD123 se asocia con un mal pronóstico (Testa et al, 2002, *Blood*, 100:2980-8). Además, las células madre de AML se pueden eliminar en ratones inmunodeficientes mediante el tratamiento con anticuerpo anti-CD123 (Yalcintepe et al, 2006, *Blood*, 108:3530-7; Jin et al, 2009, *Cell Stem Cell*, 5:31-42). Estas observaciones implican a CD123 como una posible diana para la terapia con células CART. Sin embargo, CD123 también se expresa en progenitores mieloides, células dendríticas plasmocitoides, mastocitos, basófilos, megacariocitos y algunas células B.

En esta memoria se demuestra que células T con re-direccionamiento de CD123 humanas (CART123) erradican tanto la AML primaria como la médula ósea normal en ratones con sistema inmunitario humanizado. Sin desear estar ligado a una teoría particular, ya que la AML humana probablemente esté precedida por la evolución clonal en células madre hematopoyéticas normales o "pre-leucémicas" (Weissman, 2005, *JAMA*, 294:1359-66; Miyamoto et al., 2000, *PNAS*, 97:7521-6; Hong et al, 2008, *Science*, 319:336-9; Nilsson et al, 2002, *Blood*, 100:259-67; Welch et al, 2012, *Cell*, 150:264-78; Walter et al, 2012, *N Engl J Med*, 366:1090-8), los datos presentados en esta memoria apoyan a CART123 como una estrategia viable para el tratamiento de la AML y como un nuevo régimen de acondicionamiento celular antes del trasplante de médula ósea.

Materiales y Métodos

Transducción de células T

Se seleccionaron positivamente células T de donantes normales de paquetes de leucocitaféresis, se expandieron *in vitro* con perlas anti-CD3/CD28 (Invitrogen) e IL-2 (Chiron) y se transdujeron con sobrenadante lentiviral de células 293T transfectadas con ADN de plásmido pELNS anti-CD123-41BB-CD3zeta.

5 Células

Las líneas celulares MOLM14 se obtuvieron de ATCC y se mantuvieron en medio RPMI complementado con suero de ternera fetal al 10%, penicilina y estreptomina (R10). Para producir un modelo bioluminiscente, las células MOLM14 se transdujeron con una construcción lentiviral *luc2-gfp-luciferasa* y se clasificaron dos veces hasta una pureza elevada.

10 Las células de AML primarias se obtuvieron de las instalaciones de Stem Cell and Xenograft Core en la Universidad de Pennsylvania, o directamente de la sangre del paciente bajo un protocolo aprobado por IRB. Las células se congelaron en suero de ternera fetal al 90% y DMSO al 10% hasta que se requirieron para su uso. Para todos los estudios funcionales, células de AML se descongelaron al menos durante 12 horas antes del análisis y reposaron durante la noche a 1×10^6 /ml en R10. Para todos los estudios de xenoinjerto, las células primarias se descongelaron, se lavaron una vez en PBS y se inyectaron directamente en ratones.

15 Citometría de flujo

20 Los anticuerpos anti-humanos se adquirieron de Biolegend, Ebioscience o Becton Dickinson. Las células se aislaron de cultivo *in vitro* de animales, se lavaron una vez en PBS complementado con suero de ternera fetal al 2% y se tiñeron en hielo después del bloqueo de los receptores Fc. Para la cuantificación, se utilizaron perlas Invitrogen Countbright de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En todos los análisis, la población de interés se seleccionó en función de las características de dispersión frontal frente a la lateral, seguida de la activación de singlete, y las células vivas se activaron utilizando Live Dead Aqua (Invitrogen). Se realizaron ensayos de desgranulación de CD107a y ensayos de producción de citoquinas intracelulares como se describió previamente (Betts y Koup, 2004, Methods Cell Bio, 75:497-512). Se realizó citometría de flujo en un Fortessa de cuatro láser (Becton-Dickinson).

25 Proliferación

30 Las células T se lavaron y se resuspendieron hasta 1×10^7 /ml en 100 μ l de PBS, y se tiñeron con 100 μ l de CFSE 2,5 μ M (Life Sciences) para una concentración final de 1,25 μ M durante 5 minutos a 37 grados. La reacción se enfrió bruscamente con R10 frío y las células se lavaron tres veces. Las células T se incubaron en una relación de 1:1 con células diana.

35 Ensayo de exterminio

Los ensayos de exterminio se realizaron como se describió previamente (Cao et al, 2010, Cytometry A, 77:534-45). Brevemente, dianas marcadas con CFSE se incubaron en las relaciones indicadas con células T efectoras durante 16 horas. A continuación, se recogieron las células, se añadieron perlas Countbright y 7-AAD, y se analizaron en un Accuri C6 (Becton-Dickinson).

40 Secreción de citoquinas

45 Células efectoras y diana se incubaron en una relación de 1:1 en medio X-Vivo con suero humano al 10% durante 24 horas. El sobrenadante se analizó mediante una matriz de 30-plexo de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen).

50 RT-PCR

Después de la clasificación celular de células primarias, se extrajo el ARN (Qiagen), seguido de la transcripción inversa y RTqPCR utilizando cebadores para IL3RA (Life Sciences).

55 Ratones

Ratones NOD-SCID-cadena- $\gamma^{-/-}$ (NSG) o NSG-S (ratones NSG transgénicos para IL-3, SCF y GM-CSF humanos) se obtuvieron originalmente de Jackson Labs.

60 Modelos in vivo

Los detalles de experimentos in vivo particulares se describen en otra parte de esta memoria. La línea celular MOLM14 de AML se inyectó en 200 μ l de PBS a una concentración de 5×10^6 /ml en la vena de la cola, seguido de formación de imágenes por bioluminiscencia en una cámara Xenogen Spectra tal como se describió previamente. Blastos de AML primarios se inyectaron en 200 μ l de PBS a una concentración de $25-50 \times 10^6$ /ml. Se inyectaron células T en 200 μ l de

PBS a una concentración de 5×10^6 /ml en la vena de la cola. Los ratones se sacrificaron de acuerdo con el protocolo cuando estaban moribundos o tras el desarrollo de una parálisis temprana de las patas traseras.

5 Se crearon ratones con sistema inmunológico humanizado (HIS) mediante la inyección de células CD34⁺ de hígado fetal en ratones NSG recién nacidos. El injerto de hematopoyesis humana se confirmó 5-6 semanas después de la inyección y antes de la liberación de los ratones para experimentos posteriores.

Colonias de metilcelulosa

10 Se resuspendió la médula ósea o la sangre del cordón umbilical humano adulto CD34⁺ clasificado en Methocult Optimum (Stemcell Technologies) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se sembró en placas de 6 pocillos durante 14 días. En algunos experimentos, las células CD34⁺ se cultivaron primero durante cuatro horas con CART123 o células T de control. Después de 14 días, se leyeron las colonias en un microscopio invertido (Zeiss, 4X), seguido de la solubilización de las colonias en medio R10 durante la noche y la recolección de suspensiones de células
15 individuales para la citometría de flujo

Resultados

AML humana expresa CD123 y puede fijar como objetivo células T redirigidas anti-CD 123 (CART 123)

20 La etapa inicial en el diseño de una célula T receptora de antígeno quimérico terapéutico (CAR T) fue la selección de una diana apropiada que se expresa común y homogéneamente en la superficie celular. La expresión de los marcadores mieloides inmaduros CD33 (Figura 1A, círculos), CD123 (Figura 1A, triángulos) y CD34 (Figura 1A, cuadrados) se compararon en un panel de muestras primarias de AML. De acuerdo con informes anteriores, se
25 encontró que CD123 se expresa en la mayoría de las AML en niveles altos y con mayor frecuencia que CD33 o CD34 (Jordan, 2010, Sci Transl Med, 31:31ps21; Munoz et al, 2001, Haematologica, 86:1261-1269; Testa et al., 2002, Blood, 100:2980-8) (Figura 1A). La minoría de las muestras de AML parecían ser CD123 negativas por activaciones estrictamente realizadas, pero demostraron una intensidad de fluorescencia media más alta de CD123 que los
30 linfocitos normales residuales, lo que sugiere la presencia de una expresión de CD123 de bajo nivel que es poco detectable por los anticuerpos; esto fue confirmado por RTqPCR de CD123^{dim} clasificado y poblaciones brillantes (Figura 1B y Figura 1C)

Además, los blastos CD123^{dim} y CD123^{brillante} podrían formar colonias en medios semisólidos (Figura 5). Brevemente, los blastos de AML primarios se clasificaron en poblaciones CD123^{dim} y CD123^{brillante} y se sembraron en metilcelulosa
35 complementada con citoquinas humanas (Methocult Optimum, Stemcell Technologies). Catorce días después, las colonias derivadas de las células clasificadas se solubilizaron y se tiñeron para la expresión en superficie de CD45, CD34, CD38 y CD123. Los resultados se muestran en la Figura 5. Aunque no hubo expresión selectiva de CD123 en la población de células madre leucémicas putativas en contraste con publicaciones previas (Figura 6), la expresión uniforme de CD123 en blastos sugirió que la mayoría de AML sería susceptible a CART123.

40 Para evaluar la viabilidad de la fijación de objetivo de CD123 a través de una tecnología CAR, se clonaron fragmentos variables de cadena sencilla para un anticuerpo anti-CD123 en un vector de expresión CAR lentiviral con la cadena CD3zeta y la molécula coestimuladora 4-1BB en cuatro configuraciones diferentes y la construcción óptima se seleccionó en base a la cantidad y calidad de la producción de citoquinas de células T transducidas con CARCD123
45 (células CART 123, a las que también se alude como CARTCD123) en respuesta a dianas CD123⁺. Se describen dos anticuerpos anti-CD123 diferentes (32716 y 26292) en SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 101, respectivamente. En particular, se desarrollaron ocho construcciones CAR-123 diferentes basadas en la secuencia scFv de estos dos anticuerpos diferentes clonados en un vector lentiviral con la molécula de señalización 4-1BB y la cadena CD3zeta tal como se muestra en la Figura 7. Estos ocho CAR se mencionan en la Figura 7 y en todas partes como clon 72 (o "1172"), clon 73 (o "1173"), clon 74 (o "1174"), clon 75 (o "1175"), clon 76 (o "1176"), clon 77 (o "1177") y clon 78 (o "1178"). Las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de las ocho construcciones CAR-123 diferentes se proporcionan más adelante y en las SEQ ID NOs: 107-122. Después de la transducción en células T primarias, se seleccionó la construcción óptima basándose en su capacidad para fijar como objetivo una línea celular de AML que expresa CD 123, MOLM14 (Figura 8). Como se muestra en la Figura 8, en el gráfico de la izquierda, las células T humanas primarias se transdujeron con las diferentes construcciones CAR CD123 y se expusieron a MOLM14 (una línea celular de AML humana que expresa CD123) en presencia de anti-CD 107a. Después de 2 horas, las células se tiñeron para CD3 y se analizaron por citometría de flujo para la desgranulación como una medida del reconocimiento de la diana y el potencial citotóxico. En el gráfico de la derecha, se cultivaron células T humanas primarias transducidas con las diferentes construcciones CAR CD123 con células MOLM14 irradiadas durante 48 horas, seguido de aspiración del sobrenadante del cultivo para el análisis de citocinas multiplex.
60

A continuación, se demostró que las funciones efectoras sólidas requeridas para el control de la neoplasia, incluida la desgranulación, la producción de citoquinas, la proliferación y la citotoxicidad, se producen de una manera específica para CD123, lo que establece el potencial de CART123 como agentes terapéuticos para la AML (Figura 1D-Figura 1G). Por ejemplo, utilizando ensayos de desgranulación y de producción de citoquinas, se demostró que las células
65

T CART123 modificadas fijaban específicamente como objetivo a las células CD123⁺. Es importante destacar que las células T CART123 respondieron mucho más energicamente a la AML primaria que a la médula ósea normal (Figura 1D). La exposición de las células CART123 a medios, una línea celular CD123⁻, médula ósea normal (NBM), muestras de AML primaria o una línea celular CD123⁺ en presencia de anti-CD107a reveló una desgranulación específica de las células CAR⁺ (en comparación con las células CAR, izquierda), con una desgranulación más robusta a AML que a NBM (derecha). Además, las células CART123 produjeron una diversidad de quimioquinas y citoquinas homeostáticas y efectoras, lo que subraya su capacidad para orquestar una respuesta inmune productiva (Figura 1H).

Las células CART123 erradicar la AML *in vivo* y muestran una sólida respuesta de recuperación

Para testar la capacidad de las células CART123 de erradicar la AML *in vivo*, se trataron ratones inmunodeficientes injertados con la línea celular MOLM14 CD123⁺ AML con CART123, control (una célula T que expresa un CAR anti-CD19, denominado CART19) o sin células T. Se observó que el tratamiento con CART123 condujo a una supervivencia a largo plazo en este modelo animal. Brevemente, se injertaron ratones NOD/SCID de cadena y ^{-/-} (NSG) inmunodeficientes con MOLM14, seguido de una administración de células CART123 o células CART19 de control (Figura 2A). Ratones inmunodeficientes fueron sub-letalmente irradiados (200 cGy) el Día 0, luego se les inyecta a través de la vena de la cola 1x10⁶ GFP/luciferasa⁺ MOLM14 el Día 1. Se realizó una formación de imágenes bioluminiscentes (BLI) el Día 6 para cuantificar el injerto y aleatorizar los grupos de tratamiento. Vehículo, células CART19 (1x10⁶) o células CART123 (1x10⁶) se inyectaron IV el Día 7 y se siguió a los ratones con BLI en serie. La cuantificación de la radiancia con BLI se utilizó como medición sustituta de la carga de AML. En comparación con los ratones de control, la carga tumoral en los ratones que recibieron CART123 comenzó a disminuir en el espacio de una semana y se erradicó en el espacio de dos semanas con solo raras recaídas tardías (Figura 2B y Figura 2C), lo que condujo a una supervivencia a largo plazo en la mayoría de los ratones (Figura 2D). Brevemente, la Figura 2D muestra el análisis de supervivencia de ratones de xenoinjerto portadores de MOLM14, que demuestra una supervivencia significativa de los ratones tratados con CART 123 (cuadrados) en comparación con los ratones tratados con vehículo (círculos) y los ratones tratados con CART 19 (triángulos). El desgaste de los ratones tratados con células T CART123 se debió principalmente a la progresión de la AML detectable por BLI en los huesos faciales y la posterior anorexia y pérdida de peso. Los datos resumidos son de cuatro experimentos. El uso de células MOLM14 que expresan luciferasa permitió una evaluación bioluminiscente en serie de la carga tumoral, lo que demuestra la capacidad de las células CART123 de erradicar el tumor con una cinética equivalente, independientemente de la carga tumoral. La Figura 2C es un resumen de los datos de BLI de tres experimentos de xenoinjerto con MOLM14, que demuestran una rápida progresión leucémica en ratones tratados con vehículo (círculos) y tratados con CART 19 (triángulos), mientras que se observó erradicación de la AML en ratones tratados con CART 123 (cuadrados). La radiancia media con el error típico de la media (monocristales) se representa en cada momento.

A pesar del tratamiento inicial con éxito de la leucemia, muchos pacientes experimentan recaídas. Con el fin de modelar esto, se examinó la capacidad de los ratones "curados" de MOLM14 de rechazar una segunda infusión de la misma leucemia (Figura 2E). Brevemente, los ratones inmunodeficientes fueron irradiados sub-letalmente (200 cGy) el Día -8 y luego se les inyectó a través de la vena de la cola PBS (fila superior) o 1x10⁶ *gfp/luciferasa*⁺ MOLM14 (fila inferior) el Día -7. Se realizó una formación de imágenes bioluminiscentes (BLI) el Día -1 para cuantificar el injerto y aleatorizar los grupos de tratamiento. Células CART123 (1x10⁶) se inyectaron IV el Día 0, y los ratones fueron seguidos con BLI en serie hasta la erradicación de la AML (esto ocurrió en todos los ratones). La cuantificación de la radiancia con BLI se utilizó como medición sustituta de la carga de AML. Aproximadamente dos semanas después de la evaluación basada en BLI de la erradicación de AML, todos los ratones fueron estimulados (fila superior) o re-estimulados (fila inferior) con 1x10⁶ *gfp/luciferasa*⁺ MOLM14. Luego se siguió a los ratones con sangrados semanales para los números de células T y BLI para la carga de AML.

Los animales que habían eliminado previamente MOLM14, así como los que habían recibido previamente células CART123 sin MOLM14, pudieron posteriormente rechazar la re-estimulación de la leucemia con cinéticas similares (Figura 2F). Los ratones previamente expuestos a leucemia mostraron una tendencia a una mayor proporción de células T de la memoria central y una menor proporción de células T de la memoria efectoras antes de la re-estimulación a la leucemia (Figura 9). A pesar de que las células T CAR⁺circulantes de referencia en el grupo que previamente experimentó leucemia en comparación con el grupo que no había recibido leucemia, tras la (re)-estimulación se observó un aumento más precipitado de las células T CAR⁺en el grupo anterior que fue consistente con una respuesta de recaída (Figura 2G). Brevemente, se extrajo sangre de los ratones siete días antes o después de la inyección de células MOLM14. Las células CART123 eran células CD45⁺ CD3⁺ CAR⁺ humanas singlete vivas y se cuantificaron utilizando perlas de recuento. Es importante destacar que en animales ocasionales con una respuesta CART123 inicial deficiente hubo un escape tumoral transitorio (Figura 2F), que luego fue seguido por un aumento retardado en las células CART123 y la posterior eliminación de la AML (Figura 2H).

Blastos de AML del paciente primarios son susceptibles a las células CART123

Una desventaja importante de los modelos de líneas de células tumorales es su incapacidad para recapitular la verdadera heterogeneidad biológica de la neoplasia primaria. AML en particular es una enfermedad clonalmente heterogénea (Walter et al, 2012, N Engl J Med, 366:1090-8) y, por lo tanto, la fijación potente de objetivo mediada por

células CART de un solo antígeno podría conducir a una recaída de pérdida de antígenos, como ya ocurrió en un paciente con leucemia linfoblástica aguda de células B tratada con células CART19 (Grupp y Kalos, 2013, N Engl J Med, 368:1509-18). Para confirmar la eficacia de las células CART123 en el tratamiento de la AML primaria, se utilizó un modelo descrito recientemente con injerto rápido de AML (Wunderlich et al, 2010, Leukemia 1785-8). Se inyectaron muestras de pacientes a ratones NOD-SCID-IL2Ry^{-/-} que expresan constitutivamente factor de células madre humanas, GM-CSF e IL-3 (Figura 10) y se injertaron aproximadamente a las 2 semanas. Luego se trataron con CART123 o células T de control, y se siguió para la erradicación de la AML y la supervivencia (Figura 3A). Brevemente, ratones NSGS fueron irradiados subletalmente el D-1, y se les inyectaron 5-10x10⁶ blastos de AML primarias a través de la vena de la cola el D0. El injerto se confirmó mediante la detección de células CD45^{dim/pos} CD123^{pos} humanas CD45^{neg} de ratón vivas en la sangre periférica, que ocurren habitualmente alrededor del D14. Al día siguiente, a los ratones se les inyectaron células CART123 descongeladas o células T de control (CART19 o células T no transducidas en algunos experimentos). A continuación, se extrajo sangre de los ratones semanalmente y se analizó la carga de AML

Los blastos circulantes se erradicaron en los receptores de CART123, pero no en los controles (Figura 3B), lo que condujo a una ventaja de supervivencia en el grupo de tratamiento a pesar de una considerable tasa de deserción temprana (Figura 3C). Téngase en cuenta en la Figura 3B que las células T CD45^{brillante} residuales eran difícilmente detectables en algunos ratones CART123 en este momento, lo que se correlaciona con la observación del rápido aumento y caída de las células T PB tras la respuesta y eliminación de la AML (como en la Figura 2). Es importante destacar que las células CART123 fueron eficaces incluso contra la leucemia CD123^{dim}, probablemente relacionada con la regulación al alza de CD123 en blastos CD123^{dim} a lo largo del tiempo (Figura 3D). El nivel de expresión de CD123 de blastos se correlacionó inversamente con la capacidad proliferativa tal como se muestra por la tinción Ki67 (Figura 3E). Tomado junto con la demostración de que los blastos CD123^{dim} regulan al alza CD123 in vitro e in vivo, sin desear ceñirse a teoría particular alguna, esto puede indicar que a medida que se eliminan los blastos CD123^{brillante}, se reemplazan por blastos CD 123^{dim} que luego se convierten en una diana para las células CART123.

Las células CART123 inducen la mieloablación

Habiendo establecido que las células CART123 pueden fijar como objetivo y erradicar la AML, se buscó evaluar su efecto sobre la hematopoyesis normal. Se ha observado la expresión de CD123 en algunas células hematopoyéticas normales, incluyendo progenitores mieloides, células dendríticas, algunas células B y megacariocitos, y la señalización de IL-3 juega un papel importante en la diferenciación mieloide (Pang et al, 2011, PNAS, 108:20012-20017). Primero, se confirmó que CD123 se expresa en la mayoría de los progenitores hematopoyéticos de linaje negativo (Figura 4A y Figura 11). Brevemente, la médula ósea de cuatro donantes normales se tiñó para CD123 después de la activación en células CD45^{dim} negativas de linaje singlete vivas, y con las subpoblaciones progenitoras indicadas identificadas utilizando CD34, CD38, CD45RA y CD90 (la estrategia de activación se muestra en la Figura 11). La activación de CD123 se basó en linfocitos normales y se confirmó con características de fluorescencia menos uno (FMO). Los resultados se muestran en la Figura 4A.

Luego, CD123⁻ y CD123⁺ se separaron de los precursores normales de BM y se encontró que ambas poblaciones eran capaces de producir colonias hematopoyéticas y que estas colonias tenían una expresión equivalente de CD123, lo que demuestra que la expresión de CD123 es un proceso dinámico en lugar de determinista (Figura 4B). Brevemente, las células CD123^{dim} o CD123^{moderadas} CD34⁺ se separaron de la BM normal (panel superior) y se dejaron diferenciar durante un cultivo de 14 días en medio de metilcelulosa complementado con citoquinas humanas recombinantes. Las poblaciones cultivadas clasificadas exhibieron una expresión de CD123 similar y una capacidad indistinguible para formar colonias mieloides o eritroides.

Además, la exposición a corto plazo de las células CD34⁺ de la sangre del cordón umbilical a células CART123 condujo a una reducción acusada en la formación de colonias mieloides, lo que demuestra un potente efecto de las células CART123 sobre la función progenitora mieloide (Figura 4C). Brevemente, células CD34⁺ derivadas de la sangre del cordón umbilical se incubaron en una relación T:E 1:10 con CART123 o células T no transducidas durante 4 horas, seguido de un cultivo durante 14 días en medio de metilcelulosa complementado con citoquinas humanas recombinantes. La función hematopoyética se evaluó mediante recuentos manuales de colonias o se cuantificó con precisión mediante citometría de flujo para las poblaciones de células indicadas utilizando perlas Countbright.

En cualquier posible ensayo clínico futuro de células CART123 para la AML, es probable que los pacientes hayan recibido quimioterapia de inducción reciente. Para investigar el efecto de la recuperación de la médula después de la quimioterapia sobre la expresión de CD123 en las células progenitoras de la médula, se trataron ratones injertados en médula ósea humana con 5-fluorouracilo. Se encontró que después de la quimioterapia, la recuperación se asocia con un aumento en las células del ciclo como se anticipó, y que la expresión de CD123 fue mayor en las células del ciclo (Figura 4D). Brevemente, los ratones injertados previamente con células CD34⁺ humanas se trataron con 5-fluorouracilo o vehículo. Catorce días más tarde, se recogió BM de estos ratones y se analizó para el marcador de proliferación intracelular Ki67 y CD123, activando células humanas negativas de linaje vivo.

Finalmente, los ratones injertados previamente con células CD34⁺ humanas se trataron con células CART123 o con células T de control no transducidas (Figura 4E). Brevemente, se injertaron a ratones NSG células CD34⁺ de hígado fetal humano y se extrajo sangre para la confirmación del injerto después de 6-8 semanas. El Día 0, los ratones

recibieron CART123, células T de control no transducidas o vehículo. El análisis semanal de sangre periférica para determinar el número de células fue seguido por la recolección del Día 28 para el análisis de la hematopoyesis humana residual. Como se anticipó a partir del nivel inicial de expresión de CD123 en células B y células mieloides circulantes normales (Figura 12), se observó una disminución progresiva de estas células en la sangre periférica (Figura 10F). Después de un mes de exposición in vivo, los ratones que recibieron células CART123 tenían hematopoyesis humana virtualmente ausente (Figura 4G y Figura 13), lo que demuestra el potente potencial mieloablativo de las células CART123. Brevemente, el Día 28 después de la inyección de células T, se recogió BM y se analizó para las poblaciones de células progenitoras humanas, activando células CD45^{dim} humanas singlete vivas. Los resultados se muestran en la Figura 4G. En otro experimento, se injertaron a ratones NSG células CD34⁺ de hígado fetal humano y se trataron con CART123, células T no transducidas (UTD) o vehículo (CTRL) después de 8 semanas. Cuatro semanas más tarde, se recogió médula ósea y se tiñó para cóctel de linaje CD45 humano, CD34, CD38, CD45RA, CD90 y CD123. El recuento absoluto de células se obtuvo utilizando perlas Countbright. Los resultados se muestran en la Figura 13.

15 CART 123 erradica la AML y la médula ósea

Se ha demostrado en esta memoria que CART123 proporciona un medio potente para erradicar la AML junto con la médula ósea normal residual. Este enfoque tiene aplicaciones terapéuticas en seres humanos debido a su capacidad de erradicar las células malignas, así como los precursores de médula pre-malignos que probablemente existan en la AML y en el síndrome mielodisplásico (MDS). Además, este enfoque proporciona un nuevo régimen de acondicionamiento celular no basado en quimioterapia antes del trasplante de médula ósea. Estas observaciones subrayan una nueva aplicación de la terapia celular basada en CAR, siendo CD123 un objetivo particularmente atractivo debido a la importancia de la señalización de IL-3 en la médula en desarrollo (Pang et al, 2011, PNAS, 108:20012-20017). En determinadas realizaciones, esta modalidad proporciona presión anti-CD 123 transitoria, en lugar de permanente, mediante el uso de interruptores suicidas o con tecnología CAR de ARNm "biodegradable", p. ej., tal como se describe en esta memoria, que se ha demostrado que es práctica y eficaz. En determinadas realizaciones, CART123 puede utilizarse para fijar como objetivo CD123 para tratar pacientes con AML de alto riesgo.

30 Ejemplo 2: Células T Modificadas con Receptor de Antígeno Quimérico Anti-CD 123 para B-ALL

Se diseñaron experimentos para evaluar la capacidad de CART123 de fijar como objetivo células de leucemia linfoblástica aguda de células B (B-ALL). Se observó que las células CART123 se desgranulan en respuesta a o exterminan blastos B-ALL (Figuras 15 y 16). Las células CART123 reconocen selectivamente los blastos B-ALL (Figura 15). Las células CART123 se cultivaron solas, con PMA/ionomicina como control positivo, con la línea de células tumorales CD123⁺ conocida, la línea celular CD123⁻ o con los blastos B-ALL de los pacientes y los resultados se presentan en la Figura 14. CART123 respondió selectivamente a B-ALL utilizando el ensayo de desgranulación de CD107a. Además, se incubaron blastos primarios de B-ALL (dianas) con células CART123 (efectoras) durante la noche, y el número de células de blastos vivos restantes se evaluó al día siguiente utilizando un ensayo de citotoxicidad basado en FACS [REF: PMID: 20229499]. Tal como se muestra en la Figura 16, el aumento de la relación de efectores a dianas condujo a un exterminio incrementado de los blastos.

Además, se demostró la expresión de CD123 en ALL. En particular, el cribado por citometría de flujo de un panel de 16 muestras de adultos con ALL en recaída o refractaria (RR-ALL) mostró un alto nivel de expresión de CD19 (un marcador de células B clásico), junto con la expresión de CD123 (Figura 17A). Se encontraron hallazgos similares en muestras pediátricas (Figura 17B). La expresión se demostró mediante citometría de flujo de muestras de pacientes almacenadas y descongeladas, activadas en blastos bajos CD45^{dim} SSC. La expresión de CD123 también se demostró en la ALL CD19-ve recidivante después del tratamiento con CTL019. Por ejemplo, tal como se muestra en las Figuras 18 y 19, se demostró que los pacientes que recaían con ALL-CD19 después de la terapia con CART retenían la expresión de CD123. Estos resultados sugieren que CART123 puede utilizarse para prevenir recaídas de CD19 resultantes de la terapia con CART19

Las Figuras 20-24 demuestran la actividad in vitro de CART123 1172 contra los blastos de ALL. La exposición a la línea celular B-ALL indujo una fuerte proliferación en las células tanto CART 19 como CART123 (Figura 20). Las células CART123 o CART19 se tiñeron con CFSE y se incubaron con los objetivos indicados durante 120 horas, seguido de análisis FACS para dilución de CFSE. Los histogramas se activaron en células T CD3⁺ vivas. La exposición a muestras de ALL de células B primarias también indujo una fuerte proliferación en las células tanto CART19 como CART123 (Figura 21). Las células CART123 se desgranulan de forma robusta en respuesta a NALM6 B-ALL así como a ALL primaria, sin diferencia entre ALL primaria y AML (Figura 22). Las células T indicadas se incubaron con las dianas indicadas en presencia de anti-CD107a, anti-CD49d, anti-CD28 y monensina durante 4 horas, seguido de análisis FACS activado en células T. La exposición a muestras primarias de ALL mediante el cocultivo de células CART123 o CART19 con muestras primarias de ALL condujo a la secreción de múltiples citoquinas efectoras a las 24 horas (Figura 23). No se observaron diferencias entre CART19 y CART123. Se recogió el sobrenadante de un co-cultivo de 24 horas, seguido de análisis en un kit de 30-plexo (se muestran las citoquinas seleccionadas). Las células CART123 y CART19 mostraron una capacidad equivalente para exterminar células NALM6 B-ALL en ensayos de citotoxicidad a las 4 horas (Figura 24).

La Figura 25 demuestran la actividad in vivo de CART123 en un modelo murino de ALL. En particular, a ratones NSG se les inyectaron 1×10^6 células de luciferasa verdes escarabajo de clic Nalm6 el D0. El D7, a los ratones se les inyectaron células T UTD, células, CART19 células CART123 o una población mixta 50:50 de CART19 y CART123 a una dosis total de células de 1×10^6 (grupo combo). Se siguió a los ratones en cuanto a su supervivencia. Como se muestra en la Figura 25, la monoterapia con CART123 fue claramente superior a las células T no transducidas (UTD), pero no tan eficaz como la monoterapia con CART19 para potenciar la supervivencia de los animales. La combinación de CART123 y CART19 no mejoró la supervivencia en comparación con la monoterapia con CART19. No obstante, la terapia combinada CART19 + CART123 podría prevenir la aparición de recaídas de pérdida de antígenos, como ya se ha indicado que ocurre en los pacientes, tal como se ilustra en la Fig. 18 y la Fig. 19.

Los resultados presentados en esta memoria reafirman la modificación con éxito de células T redirigidas anti-CD 123 (CART123) y demuestran una actividad preclínica potente y específica. Estos resultados demuestran la viabilidad de utilizar CART123 para fijar como objetivo CD123 para tratar pacientes con alto riesgo de ALL. Además, estos resultados demuestran que CD123 se expresa en niveles altos en muestras de ALL primaria y que los pacientes con ALL que recaen con la enfermedad de CD19 conservan la expresión de CD123. CART123 muestra una actividad in vitro equivalente contra la ALL primaria, en comparación con CART19. La infusión combinada de CART123 y CART19 podría utilizarse para prevenir recaídas en la pérdida de antígenos ampliando el número de antígenos a través de los cuales se ejerce presión inmunitaria sobre la neoplasia.

Ejemplo 3: Secuencias de CAR

Los scFv utilizados en las construcciones de CAR se sintetizaron independientemente basándose en una secuencia publicada (Du et al, 2007 Journal of Immunotherapy 30:607). Los anticuerpos originales en Du et al. eran de hibridomas que Du et al. obtuvieron de Stemline Therapeutics, NY, NY. Las secuencias de scFv se derivaron de las regiones variables de la cadena ligera y pesada de estos anticuerpos: 26292 y 32716 (Figura 7A). Cada uno fue clonado en una dirección de la cadena ligera a la pesada o de la cadena pesada a la ligera, con un enlazador flexible que conecta los dominios VL y VH, en una estructura de vector que contiene la región de bisagra CD8 o IgG4 junto con la molécula 4-1BB y la molécula CD3zeta (Figura 7A y 7B).

La secuencia de polipéptidos en el clon titulado CD123 4-1BBCD3z-CAR se proporciona como el polipéptido de 496 aa de SEQ ID NO: 1. La secuencia conductora comprende los residuos de aminoácidos 1 a 25 de SEQ ID NO: 1 y se proporciona por separado como SEQ ID NO: 3. El dominio scFv se proporciona por separado como SEQ ID NO: 2 y comprende un dominio VL que comprende los residuos de aminoácidos 26 a 136 de SEQ ID NO: 1, la secuencia de enlazador que comprende los residuos de aminoácidos 137 a 151 de SEQ ID NO: 1 y la secuencia del dominio VH que comprende los residuos de aminoácidos 152 a 269 de SEQ ID NO: 1. La región de bisagra comprende los residuos de aminoácidos 270 a 318 de SEQ ID NO: 1 y se proporciona por separado como SEQ ID NO: 4. El dominio transmembrana comprende los residuos de aminoácidos 319 a 342 de SEQ ID NO: 1, y se proporciona por separado como SEQ ID NO: 5. El dominio intracelular 4-1BB comprende los residuos de aminoácidos 343 a 384 de SEQ ID NO: 1 y se proporciona por separado como SEQ ID NO: 6. El dominio de CD3zeta comprende los residuos de aminoácidos 385 a 496 de SEQ ID NO: 1, se proporciona por separado como SEQ ID NO: 7.

El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO: 1 se proporciona como SEQ ID NO: 8. El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:2 se proporciona como SEQ ID NO: 9. El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:3 se proporciona como SEQ ID NO: 10. El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:4 se proporciona como SEQ ID NO: 11. El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:5 se proporciona como SEQ ID NO: 12. El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:6 se proporciona como SEQ ID NO: 13. El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:7 se proporciona como SEQ ID NO: 14. El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:98 se proporciona como SEQ ID NO: 99.

- **CD123 4-1BBCD3z-CAR (secuencia de aminoácidos)(SEQ ID NO: 1)**
(correspondiente a 1172 en la Figura 7A)

MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNY
 GNTEMHWYQKPGQPPKLLIYRASNLESIGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDV
 ATYYCQQSNEPPTFGAGTKLELKGGGGSGGGGSSGGGSQIQLVQSGPELKKPG
 ETVKISCKASGYIFTNYGMNWVKQAPGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRF
 AFSLETSASTAYLHINDLKNEDTATYFCARSGGYDPMDYWGQGTSTVTVSSASSG
 TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTC
 GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
 RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRK

NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL
HMQUALPPR

• **CD123 scFv (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO:2)**

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRA
SNLESGIPARFSGSGSRDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPPTFGAGTKLELK
GGGSGGGGSSGGGSQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNYGMN~~WVKQ~~
APGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRFAFSLETSASTAYLHINDLKNEDTAT
YFCARSGGYDPM~~W~~WGQTSVTVSS

CD8 conductor (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 3)

MALPVTALLLPLALLLHAARP

Bisagra de CD8 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 4)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

Transmembrana de CD8 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 5)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

Dominio intracelular de 4-1BB (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 6)

KRGRKLLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL

• **CD3 zeta (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 7)**

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP~~EMGGKPRRK~~
NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL
HMQUALPPR

• **dominio CD3 zeta (secuencia de aminoácidos: Secuencia Referencia NCBI NM_000734.3) (SEQ ID NO:98)**

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP~~EMGGKPRRK~~
NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL
HMQUALPPR

El nucleótido que codifica el polipéptido de SEQ ID NO:11 se proporciona como SEQ ID

• **CD123 4-1BBCD3z-CAR (secuencia de ácido nucleico) (SEQ ID NO: 8)**

ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGC
5 CGCTAGACCCGGATCCGACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCCCTGGCC
GTGTCCCTGGGACAGAGAGCCACAATCAGCTGCAGGGCCAGCGAGAGCGTG
GACAACTACGGCAACACCTTCATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGC
10 CCCCCAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAGCAACCTGGAAAGCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCAGCGGCAGCAGAACCGACTTCACCCTGACCATCAACCCC
GTGGAAGCCGACGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGAC
15 CCCCCACATTTGGAGCCGGCACCAAGCTGGAAGTGAAGGGCGGAGGGCGGA
TCTGGCGGGCGGAGGATCTTCTGGGGGAGGCTCTCAGATTAGCTGGTGCAGA
GCGGCCAGAGCTGAAGAAACCCGGCGAGACAGTGAAGATCTCCTGCAAGG
20 CCTCCGGCTACATCTTACCAATTACGGCATGAACTGGGTCAAGCAGGCCCC
TGGCAAGAGCTTCAAGTGGATGGGCTGGATCAACACCTACACGGCGAGAGC
ACCTACAGCGCCGACTTCAAGGGCAGATTTCGCTTCAGCCTGGAAACCAGCG
25 CCAGCACCGCCTACCTGCACATCAACGACCTGAAGAACGAGGACACCGCCAC
CTATTTCTGCGCCAGAAGCGGGCGGCTACGACCCCATGGATTATTGGGGCCAG
GGCACAGCGTGACCGTGTCTCTGCTAGCTCCGGAACCACGACGCCAGCGC
30 CGCGACCACCAACACCGGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCGTGCCCTGCG
CCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCT
GGACTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGG
35 TCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAAA
CTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGA
GGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGA
40 ACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACAAGCAGGG
CCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGAT
GTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGA
45
AGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATG
GCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAG
50 GGGCACGATGGCCTTTACCAGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACG
ACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
55
60
65

• **CD123 scFv (secuencia de ácido nucleico) (SEQ ID NO: 9)**

5 GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGACAGA
 GAGCCACAATCAGCTGCAGGGCCAGCGAGAGCGTGGACAACACTACGGCAACA
 CCTTCATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGAT
 CTACAGAGCCAGCAACCTGGAAAGCGGCATCCCCGCCAGATTTTCCGGCAGC
 10 GGCAGCAGAACCGACTTCACCCTGACCATCAACCCCGTGGAAGCCGACGACG
 TGGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGACCCCCCACATTTGGAGC
 CGGCACCAAGCTGGAAGTGAAGGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAGGATC
 15 TTCTGGGGGAGGCTCTCAGATTCAGCTGGTGCAGAGCGGCCAGAGCTGAAG
 AAACCCGGCGAGACAGTGAAGATCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATCTTCA
 CCAATTACGGCATGAACTGGGTCAAGCAGGCCCTGGCAAGAGCTTCAAGTG
 20 GATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGCGAGAGCACCTACAGCGCCGACTTC
 AAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGAAACCAGCGCCAGCACCCGCTACCTGC
 ACATCAACGACCTGAAGAACGAGGACACCGCCACCTATTTCTGCGCCAGAAG
 25 CGGCGGCTACGACCCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTG
 TCCTCT

• **conductora (secuencia de ácido nucleico) (SEQ ID NO: 10)**

30 ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGC
 CGCTAGACCC

• **bisagra (secuencia de ácido nucleico) (SEQ ID NO: 11)**

35 ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGC
 40 AGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGT
 GCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT

• **transmembrana (secuencia de ácido nucleico) (SEQ ID NO: 12)**

45 ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGCACT
 GGTTATCACCCTTTACTGC

• **dominio intracelular 4-1BB (secuencia de ácido nucleico) (SEQ ID NO: 13)**

50 AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGAC
 55 CAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGA
 AGAAGAAGGAGGATGTGAACTG

60

65

• **CD3 zeta (secuencia de ácido nucleico) (SEQ ID NO: 14)**

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAG
 AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTT
 TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGA
 AGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGG
 AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGC
 ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGC
 CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

• **CD3 zeta (secuencia de ácido nucleico; Secuencia Referencia NCBI NM_000734-3); (SEQ ID NO:99)**

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAG
 AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTT
 TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGA
 AGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGG
 AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGC
 ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGC
 CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

CD123 4-1BBD3z-CAR (26292) (1176) (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 100)

MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKDLA
 WYQEKP~~GT~~KNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQ
 HNKYPYTFGGGTKLEIKGGGGSSGGSSGGGSQVQLQPGAELVRPGASVKLSC
 KASGYTFTSYWMNWVKQRPDQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKS
 SSTA~~Y~~MQLSLTSSEDSAVYYCARGNWDDYWGQGTTTLTVSSASSGTTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVIT
 LYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADA
 PAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
 QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

CD123 scFv (26292) (1176) (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 101)

DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKDLAWYQEKP~~GT~~KNKLLIYSGSTLQS
 GIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNKYPYTFGGGTKLEIKGGGGSS
 GGGSSGGGSQVQLQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMNWVKQRPD
 QGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKSSSTA~~Y~~MQLSLTSSEDSAVYYCA
 RGNWDDYWGQGTTTLTVSS

CD123 4-IBBCD3z-CAR (26292) (1176) (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 102)

ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCACGC
5 CGCTAGACCCGGATCCGACGTGCAGATCACACAGAGCCCTAGCTACCTGGCC
GCCAGCCCTGGCGAGACAATCACCATCAACTGCCGGGCCAGCAAGAGCATCA
GCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGGAAAAGCCCGGCAAGACCAACAAGCTGC
10 TGATCTACAGCGGCAGCACCCCTGCAGAGCGGCATCCCCAGCAGATTTTCCGG
CAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCATGTACTACTGCCAGCAGCACAACAAGTACCCCTACACCTTCG
15 GCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAG
GAAGTTCTGGCGGAGGATCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGCGCTGAACT
CGTGCGGCCTGGCGCTTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACC
20 TTTACCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCCGACCAGGGCCTGG
AGTGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACAGCGAGACACACTACAACCAGA
AGTTCAAGGACAAGGCCATCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCCTA
25 CATGCAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTATTGCGCC
AGGGGCAACTGGGACGACTACTGGGGCCAGGGCACAACCCTGACAGTGTCTCT
30 CTGCTAGCTCCGGAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCC
CACCATCGCGTTCGACGCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCG
GCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCTGTGATATCTACA
35 TCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATC
ACCCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAAC
CATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCG
40 ATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAG
GAGCGCAGACGCCCCCGGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGA
GCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGC
45 CGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGC
CTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTG
GGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGG
50 GTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCT
GCCCCCTCGC

55

60

65

CD123 scFv (26292) (1176) (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 103)

5 GACGTGCAGATCACACAGAGCCCTAGCTACCTGGCCGCCAGCCCTGGCGAGA
CAATCACCATCAACTGCCGGGCCAGCAAGAGCATCAGCAAGGACCTGGCCTG
GTATCAGGAAAAGCCCGGCAAGACCAACAAGCTGCTGATCTACAGCGGCAG
10 CACCCTGCAGAGCGGCATCCCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCCGGCACC
GACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCATGTACT
ACTGCCAGCAGCACACAAGTACCCCTACACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCT
15 GGAAATCAAGGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTTCTGGCGGAGG
ATCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGCGCTGAACTCGTGCGGCCTGGCGCT
TCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGA
20 TGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCCGACCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAGAA
TCGACCCCTACGACAGCGAGACACACTACAACCAGAAGTTCAAGGACAAGG
CCATCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCCTACATGCAGCTGTCCAG
25 CCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTATTGCGCCAGGGGCAACTGGGAC
GACTACTGGGGCCAGGGCACAACCCTGACAGTGTCTCT

Bisagra IgG4 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 104)

30 ESKYGPPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
35 SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSLGKM

40

45

50

55

60

65

Bisagra IgG4 (secuencia de nucleótidos) /SEQ ID NO: 105)

5 GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGG
CGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCAAGGACACCCTGATGATC
AGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACC
10 CCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAA
GACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTG
CTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGG
15 TGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCA
AGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGA
GATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC
AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTAC
20 AAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCC
GGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTC
CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTG
25 TCCCTGGGCAAGATG

**EF1 α que impulsa CD123 4-1BBD3z-CAR (32716) (1172) (secuencia de nucleótidos)
(SEQ ID NO: 106)**

30

Promotor EF1 α en itálica

35 CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCG
AGAAGTTGGGGGGAGGGGTCCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCG
GGGTAACTGGGAAAGTGATGTCGTGACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGG
40 GGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTCGCAACGGGT
TTGCCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTT

45

50

55

60

65

TACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGA
 TTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGC
 TTAAGGAGCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGG
 5 CCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAG
 TCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTCTGGCAAGATA
 GTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCG
 10 GCGGGCGACGGGGCCCGTGCCTCCAGCGCACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCT
 GCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTG
 CTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCCGCTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGC
 15 TGGCCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTG
 CTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAG
 TCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTC
 20 CACTGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGTGCTTTTTGGAGT
 ACGTCGTCTTLAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTG
 AGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGAA
 25 TTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGTTTATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAA
 AGTTTTTTTCTTCCATTCAGGTGTCGTGAGCTAGCTCTAGAGCCACCATGGCCC
 TGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGCCGCTAGA
 30 CCCGGATCCGACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCCCTGGCCGTGTCCCT
 GGGACAGAGAGCCACAATCAGCTGCAGGGCCAGCGAGAGCGTGGACAATA
 CGGCAACACCTTCATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCAGCCAGCCCCCAAG
 35 CTGCTGATCTACAGAGCCAGCAACCTGGAAAGCGGCATCCCCGCCAGATTTT
 CCGGCAGCGGCAGCAGAACCGACTTCACCCTGACCATCAACCCCGTGGAAGC
 CGACGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGACCCCCCACA
 40 TTTGGAGCCGGCACCAAGCTGGAAGTGAAGGGCGGAGGCGGATCTGGCGGC
 GGAGGATCTTCTGGGGGAGGCTCTCAGATTCAGCTGGTGCAGAGCGGCCAG
 AGCTGAAGAAACCCGGCGAGACAGTGAAGATCTCCTGCAAGGCCTCCGGCTA
 45 CATCTTACCAATTACGGCATGAACTGGGTCAAGCAGGCCCTGGCAAGAGC
 TTCAAGTGGATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGCGAGAGCACCTACAGCG
 CCGACTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGAAACCAGCGCCAGCACCGC
 50 CTACCTGCACATCAACGACCTGAAGAACGAGGACACCGCCACCTATTTCTGC

55

60

65

GCCAGAAGCGGCGGCTACGACCCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCAGC
GTGACCGTGTCTCTGCTAGCTCCGGAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAC
5 CAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCAGAGGC
GTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGC
CTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCC
10 TGTCACTGGTTATCACCCCTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTAT
ATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATG
GCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAG
15 TGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACC
AGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGA
CAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAA
20 CCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGC
CTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGA
TGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCT
25 CACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

CD123 CAR 1172 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 107)

30 MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNY
GNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDV
ATYYCQQSNEPPTFGAGTKLELKGSGGGSSGGSSQIQLVQSGPELKKPG
35 ETVKISCKASGYIFTNYGMNWVKQAPGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRF
AFSLETSASTAYLHINDLKNEDTATYFCARSGGYDPMDYWGQGTSVTVSSASSG
TTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTC
40 GVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRK
NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDAL
45 HMQALPPR

CD123 CAR 1172 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 108)

50 ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGC
CGCTAGACCCGGATCCGACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCCCTGGCC

55

60

65

ES 2 814 962 T3

GTGTCCCTGGGACAGAGAGCCACAATCAGCTGCAGGGCCAGCGAGAGCGTG
GACAACTACGGCAACACCTTCATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGCCAGC
5 CCCCCAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAGCAACCTGGAAAGCGGCATCCCCGC
CAGATTTTCCGGCAGCGGCAGCAGAACCGACTTCACCCTGACCATCAACCCC
GTGGAAGCCGACGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGAC
10 CCCCCACATTTGGAGCCGGCACCAAGCTGGAAGTGAAGGGCGGAGGGCGGA
TCTGGCGGCGGAGGATCTTCTGGGGGAGGCTCTCAGATTCAGCTGGTGCAGA
GCGGCCCAGAGCTGAAGAAACCCGGCGAGACAGTGAAGATCTCCTGCAAGG
15 CCTCCGGCTACATCTTACCAATTACGGCATGAACTGGGTCAAGCAGGCCCC
TGGCAAGAGCTTCAAGTGGATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGCGAGAGC
ACCTACAGCGCCGACTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGAAACCAGCG
20 CCAGCACCCGCTACCTGCACATCAACGACCTGAAGAACGAGGACACCGCCAC
CTATTTCTGCGCCAGAAGCGGGCGGCTACGACCCCATGGATTATTGGGGCCAG
GGCACCAGCGTGACCGTGTCTCTGCTAGCTCCGGAACCACGACGCCAGCGC
25 CGCGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCG
CCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGGCT
GGACTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGG
30 TCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAAA
CTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGA
GGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGA
35 ACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGG
CCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGAT
GTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGA
40 AGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATG
GCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAG
GGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACG
45 ACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

CD123 CAR 1173 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 109)

50 MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNY
GNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASNLESIGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDV

55

60

65

5 ATYYCQQSNEDPPTFGAGTKLELKGSGGGSSGGGSQIQLVQSGPELKKPG
 ETVKISCKASGYIFTNYGMNWVKQAPGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRF
 AFSLETSASTAYLHINDLKNEDTATYFCARSGGYDPM DYWGQGTSVTVSSASSG
 10 ESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
 15 SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY
 TQKLSLSLKGMDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
 VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE
 20 EYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
 GKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

25 **CD123 CAR 1173 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 110)**

ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGC
 CGCTAGACCCGGATCCGACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCCCTGGCC
 30 GTGTCCCTGGGACAGAGAGCCACAATCAGCTGCAGGGCCAGCGAGAGCGTG
 GACAACTACGGCAACACCTTCATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGC
 CCCCCAAGCTGCTGATCTACAGAGCCAGCAACCTGGAAAGCGGCATCCCCGC
 35 CAGATTTCCGGCAGCGGCAGCAGAACCGACTTCACCCTGACCATCAACCCC
 GTGGAAGCCGACGACGTGGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGAC
 CCCCCACATTTGGAGCCGGCACCAAGCTGGAAGTGAAGGGCGGAGGCGGA
 40 TCTGGCGGCGGAGGATCTTCTGGGGGAGGCTCTCAGATTCAGCTGGTGCAGA
 GCGGCCAGAGCTGAAGAAACCCGGCGAGACAGTGAAGATCTCCTGCAAGG
 CCTCCGGCTACATCTTACCAATTACGGCATGAACTGGGTCAAGCAGGCCCC
 45 TGGCAAGAGCTTCAAGTGGATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGCGAGAGC
 ACCTACAGCGCCGACTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGAAACCAGCG
 CCAGCACCGCCTACCTGCACATCAACGACCTGAAGAACGAGGACACCGCCAC
 50 CTATTTCTGCGCCAGAAGCGGCGGCTACGACCCCATGGATTATTGGGGCCAG
 GGCACCAGCGTGACCGTGTCTCTGCTAGCTCCGGAGAGAGCAAGTACGGCC
 CTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCGAGTTCTGGGCGGACCCAGCGTGTC
 55 CTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGG

60

65

TGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAA
 CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGA
 5 GGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCAC
 CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGC
 CTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGG
 10 GAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACC
 AGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGT
 GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCC
 15 TGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGAC
 AAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGG
 CCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGAT
 20 GGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGT
 CACTGGTTATCACCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATAT
 ATCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGC
 25 TGAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTG
 AAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACAAGCAGGGCCAGAACCAG
 CTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACA
 30 AGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACC
 CTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCT
 ACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATG
 35 GCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCA
 CATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

40 **CD123 CAR 1174 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 111)**
 MALPVTALLLPLALLLHAARPGSIIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNY
 GMNWVKQAPGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRFAFSLETSASTAYLHIND
 45 LKNEDTATYFCARSGGYDPM DYWGQTSVTVSSGGGGSGGGGSSGGGSDIVLT
 QSPASLAVSLGQRATISCRASESV DNYGNTFMHWYQKPGQPPKLLIYRASNLES
 GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNE DPPTFGAGTKLELKASSGT
 50 TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCG
 VLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELR

55

60

65

VKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP
 QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHM
 5 QALPPR

CD123 CAR 1174 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 112)

10 ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGC
 CGCTAGACCCGGATCCCAGATCCAGCTGGTGCAGTCTGGCCCCGAGCTGAAG
 AAACCCGGCGAGACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACATCTTCA
 15 CCAACTACGGCATGAACTGGGTCAAGCAGGCCCTGGCAAGAGCTTCAAGTG
 GATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGCGAGAGCACCTACAGCGCCGACTTC
 AAGGGCAGATTGCGCTTCAGCCTGGAAACCAGCGCCAGCACCGCCTACCTGC
 20 ACATCAACGACCTGAAGAACGAGGACACCGCCACCTACTTTTGCGCCAGAAG
 CGGCGGCTACGACCCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTG
 TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGATCTTCTGGCGGCGGAAGC
 25 GATATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCCAGCCTGGCCGTGTCTCTGGGACAGA
 GAGCCACAATCAGCTGCCGGGCTCTGAGAGCGTGGACAATTACGGCAACAC
 CTCATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGATC
 30 TACAGAGCCAGCAACCTGGAAAGCGGCATCCCCGCCAGATTTTCCGGCAGCG
 GCAGCAGAACCGACTTCACCCTGACCATCAACCCCGTGGAAGCCGACGACGT
 GGCCACCTATTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGACCCCCCTACCTTTGGAGCC
 35 GGCACCAAGCTGGAAGTGAAGGCTAGCTCCGGAACCACGACGCCAGCGCCG
 CGACCACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
 CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGG
 40 ACTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTC
 CTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACT
 CCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAG
 45 GAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAA
 CTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGGTACAAGCAGGGC
 CAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGAT
 50 GTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGA
 AGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATG
 GCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAG
 55 GGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACG
 ACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

60

65

CD123 CAR 1175 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 113)

5 MALPVTALLLPLALLLHAARPGSQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNY
 10 GMNWVKQAPGKSFKWMGWINTYTGESTYSADFKGRFAFSLETSASTAYLHIND
 15 LKNEDTATYFCARSGGYDPMDYWGQTSVTVSSGGGGSGGGSSGGGSDIVLT
 20 QSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNTFMHWYQKPGQPPKLLIYRASNLES
 25 GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQSNEDPPTFGAGTKLELKASSGE
 SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
 LPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY
 TQKLSLSLGLKMDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP
 VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGNQLYNELNLRRE
 EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
 GKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

CD123 CAR 1175 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 114)

30 ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCATGC
 CGCTAGACCCGGATCCCAGATCCAGCTGGTGCAGTCTGGCCCCGAGCTGAAG
 35 AAACCCGGCGAGACAGTGAAGATCAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACATCTTCA
 CCAACTACGGCATGAACTGGGTCAAGCAGGCCCTGGCAAGAGCTTCAAGTG
 GATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGCGAGAGCACCTACAGCGCCGACTTC
 40 AAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGAAACCAGCGCCAGCACCGCCTACCTGC
 ACATCAACGACCTGAAGAACGAGGACACCGCCACCTACTTTTGCGCCAGAAG
 CGGCGGCTACGACCCCATGGATTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTG
 45 TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGATCTTCTGGCGGCGGAAGC
 GATATCGTGCTGACCCAGTCTCCTGCCAGCCTGGCCGTGTCTCTGGGACAGA
 GAGCCACAATCAGCTGCCGGGCCTCTGAGAGCGTGGACAATTACGGCAACAC

50

55

60

65

ES 2 814 962 T3

CTTCATGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGATC
TACAGAGCCAGCAACCTGGAAAGCGGCATCCCCGCCAGATTTTCCGGCAGCG
GCAGCAGAACCGACTTCACCCTGACCATCAACCCCGTGGAAGCCGACGACGT
GGCCACCTATTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGACCCCCCTACCTTTGGAGCC
5 GGCACCAAGCTGGAAGTGAAGGCTAGCTCCGGAGAGAGCAAGTACGGCCCT
CCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCT
GTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTG
10 ACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACT
GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGG
AGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCA
15 GGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCT
GCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGA
GCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAG
20 GTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGG
AGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTG
TGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAA
25 GAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCC
CTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATGG
ATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCA
30 CTGGTTATCACCCCTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATT
CAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGT
AGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAG
35 TTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCT
ATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGA
GACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTC
40 AGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACA
GTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCC
TTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACAT
45 GCAGGCCCTGCCCCCTCGC

CD123 CAR 1176 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 115)

50 MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKDLA
WYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAMYCYCQQ
HNKYPYTFGGGTKLEIKGGGGSSGGGSQVQLQPGAELVRPGASVKLSC
55 KASGYTFTSYWMNWVKQRPDQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKS
SSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGNWDDYWGQTTTLTVSSASSGTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT
60 LYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA
PAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQLSTATKDTYDALHMQUALPPR
65

CD123 CAR 1176 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 116)

5 ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCACGC
CGCTAGACCCGGATCCGACGTGCAGATCACACAGAGCCCTAGCTACCTGGCC
10 GCCAGCCCTGGCGAGACAATCACCATCAACTGCCGGGCCAGCAAGAGCATCA
GCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGGAAAAGCCCGGCAAGACCAACAAGCTGC
TGATCTACAGCGGCAGCACCCCTGCAGAGCGGCATCCCAGCAGATTTTCCGG
15 CAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCATGTACTACTGCCAGCAGCACACAAGTACCCCTACACCTTCG
GCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAG
20 GAAGTTCTGGCGGAGGATCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGCGCTGAACT
CGTGCGGCCTGGCGCTTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACC
TTTACCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCCGACCAGGGCCTGG
25 AGTGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACAGCGAGACACACTACAACCAGA
AGTTCAAGGACAAGGCCATCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCCTA
CATGCAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTATTGCGCC
30 AGGGGCAACTGGGACGACTACTGGGGCCAGGGCACAACCCTGACAGTGTCTCT
CTGCTAGCTCCGGAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCC
CACCATCGCGTTCGACGCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCG
35 GCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCTGTGATATCTACA
TCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATC
ACCCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAAC
40 CATTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCG
ATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAG
GAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGA
45 GCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGC
CGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGC
CTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTG
50 GGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGG
GTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCT
GCCCCCTCGC

55

60

65

CD123 CAR 1177 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 117)

MALPVTALLLPLALLLHAARPGSDVQITQSPSYLAASPGETTINCRASKSISKDLA
5 WYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYQCQ
HNKYPTFFGGGTKLEIKGGGGSGGGSSGGGSQVQLQPGAELVRPGASVKLSC
KASGYTFTSYWMNWVKQRPDQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKS
10 SSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGNWDDYWGQGTTLTVSSASSGESKYGPPCPP
CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
15 KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSL
GKMDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG
20 CSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRR
GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGYQ
GLSTATKDTYDALHMQUALPPR

25

CD123 CAR 1177 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 118)

30 ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCACGC
CGCTAGACCCGGATCCGACGTGCAGATCACACAGAGCCCTAGCTACCTGGCC
GCCAGCCCTGGCGAGACAATCACCATCAACTGCCGGCCAGCAAGAGCATCA
35 GCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGGAAAAGCCCGGCAAGACCAACAAGCTGC
TGATCTACAGCGGCAGCACCCCTGCAGAGCGGCATCCCCAGCAGATTTTCCGG

40

45

50

55

60

65

ES 2 814 962 T3

CAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAG
GACTTCGCCATGTACTACTGCCAGCAGCACAACAAGTACCCCTACACCTTCG
5 GCGGAGGCACCAAGCTGCAAATCAAGGGCGGAGGCGGATCTGGCGGCGGAG
GAAGTTCTGGCGGAGGATCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGCGCTGAACT
CGTGCGGCCTGGCGCTTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACC
10 TTTACCAGTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCCGACCAGGGCCTGG
AGTGGATCGGCAGAATCGACCCCTACGACAGCGAGACACACTACAACCAGA
AGTTCAAGGACAAGGCCATCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCTCCACCGCCTA
15 CATGCAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTATTGCGCC
AGGGGCAACTGGGACGACTACTGGGGCCAGGGCACAACCCTGACAGTGTCTCT
CTGCTAGCTCCGGAGAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCC
20 CCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCAAGG
ACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGT
GTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
25 GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTAC
CGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGG
AATACAAGTGTAAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCAGCAGCATCGAGAAAA
30 CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCC
CCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTG
AAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG
35 CCCGAGAACAATAAGACCACCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCT
TCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAA
CGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCAG
40 AAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATGGATATCTACATCTGGGCGCCCT
TGGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTACTGC
AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGAC
45 CAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGA
AGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGC
CCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
50 CGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAG
ATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAA
CTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGC
55 GAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACA
GCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

60

65

CD123 CAR 1178 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 119)

MALPVTALLLPLALLLHAARPGSQVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTS
 5 YWMNWVKQRPDQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKSSSTAYMQLS
 SLTSEDSAVYYCARGNWDDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSSGGGSDVQITQS
 PSYLAASPGETTINCRAKSKISKDLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSG
 10 SGGTDFLTISSLEPEDFAMY YCQQH NKYPYTFGGG TKLEIKASSGTTTPAPRPP
 TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD
 15 APAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNE
 LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

CD123 CAR 1178 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 120)

ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCACGC
 25 CGCTAGACCTGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCTGGCGCTGAACTCGTG
 CGGCCAGGCGCTTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACCTTCA
 CCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCCGACCAGGGCCTGGAGTG
 30 GATCGGCAGAATCGACCCCTACGACAGCGAGACACACTACAACCAGAAGTTC
 AAGGACAAGGCCATCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATG
 CAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTA TACTACTGCGCCAGGG
 35 GCAACTGGGACGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCCTGACAGTGTCTAGCGG
 AGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTTCTGGCGGAGGCTCCGACGTGCA
 GATCACCCAGAGCCCTAGCTACCTGGCCGCTCTCCTGGCGAGACAATCACC
 40 ATCAACTGCCGGGCCAGCAAGAGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGG
 AAAAGCCCGGCAAGACCAACAAGCTGCTGATCTACAGCGGCAGCACCCCTGC
 AGAGCGGCATCCCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAC
 45 CCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAGGACTTTGCCATGTA TATTGCCAGC
 AGCACACAAGTACCCTTACACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

GGCCAGCTCCGGAACCAACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCC
 CACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCG
 5 GCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTACA
 TCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATC
 ACCCTTTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAAC
 10 CATTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCG
 ATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAG
 GAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGA
 15 GCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGC
 CGGGACCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGC
 CTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTG
 20 GGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGG
 GTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCT
 GCCCCCTCGC

CD123 CAR 1179 (secuencia de aminoácidos) (SEQ ID NO: 121)

MALPVTALLLPLALLLHAARPGSQVQLQPPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTS
 30 YWMNWVKQRPDQGLEWIGRIDPYDSETHYNQKFKDKAILTVDKSSSTAYMQLS
 SLTSEDSAVYYCARGNWDDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSSGGGSDVQITQS
 PSYLAASPGETITINCRASKSISKDLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPSRFSG
 35 SGGTDFTLTISLEPEDFAMYQCQHNKYPYTFGGGKLEIKASSGESKYGPPCP
 PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV
 EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
 40 SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
 YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
 LGKMDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEED
 45 GCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDR
 RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLY
 QGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

CD123 CAR 1179 (secuencia de nucleótidos) (SEQ ID NO: 91)

55
 60
 65

ES 2 814 962 T3

ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCACGC
CGCTAGACCTGGATCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCTGGCGCTGAACTCGTG
CGGCCAGGCGCTTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACCTTCA
5 CCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCCGACCAGGGCCTGGAGTG
GATCGGCAGAATCGACCCCTACGACAGCGAGACACACTACAACCAGAAGTTC
AAGGACAAGGCCATCCTGACCGTGGACAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATG
10 CAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGG
GCAACTGGGACGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCCTGACAGTGTCTAGCGG
AGGCGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGTTCTGGCGGAGGCTCCGACGTGCA
15 GATCACCCAGAGCCCTAGCTACCTGGCCGCTCTCCTGGCGAGACAATCACC
ATCAACTGCCGGGCCAGCAAGAGCATCTCCAAGGACCTGGCCTGGTATCAGG
AAAAGCCCCGGCAAGACCAACAAGCTGCTGATCTACAGCGGCAGCACCCCTGC
20 AGAGCGGCATCCCCAGCAGATTTTCCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAC
CCTGACCATCAGCTCCCTGGAACCCGAGGACTTTGCCATGTACTATTGCCAGC
AGCACACAAGTACCCTTACACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA
25 GGCCAGCTCCGGAGAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCC
CCCCGAGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGG
ACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGT
30 GTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTAC
CGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGG
35 AATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCAGCAGCATCGAGAAAA
CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCC
CCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTG
40 AAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG
CCCAGAACTACAAGACCACCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCT
TCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAA
45 CGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAG
AAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATGGATATCTACATCTGGGCGCCCT
TGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
50 AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGAC
CAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGA
55 AGAAGAAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGC
CCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
CGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAG
60 ATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAA
CTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGC
GAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACA
65 GCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC

Ejemplo 4: Designaciones de CDR previstas para el CD123CAR

Las designaciones de CDR predichas para el CD123 CAR de SEQ ID NO: 1, comentadas en el Ejemplo 3, bajo Kabat son las siguientes:

VH:

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNYGMNWVKQAPGKSFKWMGWINT
 YTGESTYSADFKGRFAFSLETSASTAYLHINDLKNEDTATYFCARSGGYDPM DY
 WGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 15);

en donde CDR1 es NYGMN (SEQ ID NO: 16), CDR2 es WINTYTGESTYSADFKG (SEQ ID NO: 17), y CDR3 es SGGYDPM DY (SEQ ID NO: 18).

VL:

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRA
 SNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADVATYYCQQSNEDPPTFGAGTKLELK
 (SEQ ID NO: 19);

en donde CDR1 es RASESVDNYGNTFMH (SEQ ID NO: 20), CDR2 es RASNLES (SEQ ID NO: 21), y CDR3 es QQSNEDPPT (SEQ ID NO: 22).

Las designaciones de CDR predichas para el CD123 CAR bajo Chothia son las siguientes:
 VH:

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNYGMNWVKQAPGKSFKWMGWINT
 YTGESTYSADFKGRFAFSLETSASTAYLHINDLKNEDTATYFCARSGGYDPM DY
 WGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 15);

en donde CDR1 es GYIFTNY (SEQ ID NO: 24), CDR2 es NTYTGE (SEQ ID NO: 25), y CDR3 es SGGYDPM DY (SEQ ID NO: 26).

VL:

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRA
 SNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADVATYYCQQSNEDPPTFGAGTKLELK
 (SEQ ID NO: 19);

en donde CDR1 es SESVDNYGNTF (SEQ ID NO: 28), CDR2 es RAS (SEQ ID NO: 29), y CDR3 es SNEDPP (SEQ ID NO: 30).

Las designaciones de CDR predichas para el CD123 CAR de SEQ ID NO: 100, descritas en el Ejemplo3 bajo Kabat son las siguientes:

VH CDR1 es SYWMN (SEQ ID NO:84), CDR2 es RIDPYDSETHYNQKFKD (SEQ ID NO:85), y CDR3 es GNWDDY (SEQ ID NO:86).
 VL CDR1 es RASKSISKDLA (SEQ ID NO:87, CDR2 es SGSTLQS (SEQ ID NO:88) y CDR3 es QQHNKYPYT (SEQ ID NO:89).

Ejemplo 5: Humanización del anticuerpo anti-CD123 murino

La humanización de anticuerpo CD123 murino puede ser deseable para el entorno clínico, en que los residuos específicos para ratón pueden inducir una respuesta del antígeno anti-ratón humano. (HAMA) en pacientes que reciben tratamiento con células T transducidas con la construcción de CAR murino. La humanización se logró mediante injertando regiones CDR del anticuerpo CD123 murino de SEQ ID NO: 2 en marcos aceptores de la línea germinal

humana VH1_1-03 o VH7_7-4.1, así como VK3_L6 o VK4_B3 (base de datos vBASE). Además de las regiones CDR, varios residuos de marco, es decir, VK3 nº 68, nº 83, VK4 nº 4, nº 68, VH1 nº 2, nº 71 y VH7 nº 2, que se cree que apoyan la integridad estructural de las regiones CDR se conservaron de la secuencia murina. Además, los elementos J humanos JH6 y JK2 se utilizaron para la cadena pesada y ligera, respectivamente. Las secuencias de aminoácidos resultantes del anticuerpo humanizado se designaron VK3_L6/Hz1 (SEQ ID NO:31) y VK4_B3/Hz1 (SEQ ID NO:32) para las cadenas ligeras y VH1_1-03/Hz1 (SEQ ID NO:33) y VH7_4.1/Hz1 (SEQ ID NO:34) para las cadenas pesadas y se muestran en las Figuras 26 y 27. La numeración de los residuos sigue a Kabat (Kabat E.A. *et al*, 1991, *supra*). Para las definiciones de CDR, se utilizaron tanto Kabat como Chothia *et al*, 1987 *supra*). Los residuos de estructura conservados de CD 123 de ratón se muestran sombreados. Los residuos de CDR están subrayados. El motivo PTM en el marco VH7_7-4.1 en la posición 82a/82b (en recuadro, la secuencia marco original era CS) se mutó a NA en la construcción final.

En base a las secuencias de laa cadenaa ligera y pesada humanizadas como se muestra en las Figuras 26 y 27, se utilizó un total de 8 combinaciones de marco para generar scFv solubles para una validación adicional. Se varió el orden en el que aparecen los dominios VL y VH en el scFv (es decir, orientación VL-VH o VH-VL), y cuatro copias de la subunidad "G4S" (SEQ ID NO: 35), en las que cada una de las subunidades comprende la secuencia GGGGS (SEQ ID NO: 35) que se utilizó para conectar los marcos.

Clonación:

Se obtuvieron secuencias de ADN que codifican dominios VL y VH de ratón y humanizados, y se optimizaron los codones para las construcciones para la expresión en células humanas.

Las secuencias que codifican los dominios VL y VH se subclonaron en vectores de expresión adecuados para la secreción en células de mamífero. Los elementos del vector de expresión incluyen un promotor (potenciador-promotor de citomegalovirus (CMV)), una secuencia señal para facilitar la secreción, una señal de poliadenilación y un terminador de la transcripción (gen de la Hormona de Crecimiento Bovina (BGH)), un elemento que permite la replicación episomal y la replicación en procariontes (p. ej., origen SV40 y Co1E1 u otros conocidos en la técnica) y elementos para permitir la selección (gen de resistencia a ampicilina y marcador de zeocina).

Tabla 1.

Nombre	SEQ ID NO:	Secuencia
CAR 1		
dominio scFv de CAR1	36	Divltqspdslavslgeratincrasesvdnygntfmhwyqqkpgppklliyrasnlesg vpdrfsgsgsrtdftltisslqaedvavyycqqsnedpptfgqgkcleikggggsgggsgg ggsgggsgqqlvqsgselkkpgasvkvscasgyiftnygmnwvraqpqqglewmg wintygtgestysadfkgrfvsltdsvstaylqinalkaedtavyycarsggydpmdywgq
		gtvtvss
dominio scFv de CAR1 nt	37	gacatcgtgctgaccaatccccggacagcctcgagctcactcggagaacgcgccactat caattgtagggcgtcggagtcctggacaattacgaaacaccttcactcgtggtaccaaca aaaacctggtcagccacctaagctgctgatctaccgcgctcgaatctggaatcaggagtgc ggacagattctcggggtcggctcccgacggattcactttgaccatctgctacttcaagct gaggacgtcgcggtgtactactgccagcagcaacgaagatccaccacggtcggacaag gaccaagctggagattaaggaggcggaggctccggtggaggaggatcgggaggaggc ggctccggcggaggtgatcgagattcagctggtgcagtcgggttcagaattgaagaacc aggagcctcggtaaggtcagctgcaaggcatcaggtacatcttactaactacggcatga actgggtgcgccagctccgggacagggcctggagtggtggatggatcaaaccttacac cggggagtcaacttactcggctgactttaaggccggttgttctcctcgacactagctga gcaccgctatctcaaatcaacgcctcaaggcgaagataccgctactactcggcaa gatccggtgggtacgatccgatggattattggggacaggaaccactgtcaccgtgagcagc
scFv Soluble de CAR1 - nt	38	

ES 2 814 962 T3

Nombre	SEQ ID NO:	Secuencia
CAR 1		
		<p>atggcctccctgtcaccgcctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggccc acatcgtgctgaccaatccccggacagcctcgcagtcactcggagaacgcgccaactatc aattgtagggcgtcggagtcctggaacaattacggaacacctcatgactggtaccaaaa aaacctggtcagccacctaagctgctgatctaccgcctcgaatcggaaatcaggagtcgg gacagattctcggggtcggctcccggacggattcactftgaccatctcgtcactcaagctga ggacgtcgcggtgtactactgccagcagagcaacgaagatccaccacgttcggacaaggc accaagctggagattaaaggaggcggagctccggtggaggagatcggaggaggcgg ctccggcggagggtgatcagattcagctggcagtcgggttcagaattgaagaaccag gagcctcggtaaggtcagctgcaaggcatcagggtacatctcactaactacggcatgaact ggggtgccaggctccggacagggctggagtgatgggatggatcaacacttacaccg gggagtcaactactcggctgacttaaggccggtttgttctccctcgaactagcgtgagc accgcctatctcaaatcaacgccctcaaggcgggaagataccgccctactactgcgaaga tccggtgggtacgatccgatgattattggggacagggaaaccactgtcaccgtgagcagcg ctgcaccaccatcaccatcatcaccac</p>
scFv Soluble de CAR1 - aa	39	<p>malpvtalllplalllhaarpdvltqspdslavslgeratincreasesvdnygntfmhwyqq kpgqppklliyaslesgvpdrfsqgsrtdflitisslqaedvavyyccqnsnedpptfgqg tkleikgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsggg mnwvrqapqglewmgwintygestysadfkgrfvfsltsvstaylqinalkaedtav yycarsggydpmdywgqgtvtvssgshhhhhhhhh</p>
CAR1-Completo-nt lentivirus	40	<p>atggcctccctgtcaccgcctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcggccc acatcgtgctgaccaatccccggacagcctcgcagtcactcggagaacgcgccaactatc aattgtagggcgtcggagtcctggaacaattacggaacacctcatgactggtaccaaaa aaacctggtcagccacctaagctgctgatctaccgcctcgaatcggaaatcaggagtcgg gacagattctcggggtcggctcccggacggattcactftgaccatctcgtcactcaagctga ggacgtcgcggtgtactactgccagcagagcaacgaagatccaccacgttcggacaaggc accaagctggagattaaaggaggcggagctccggtggaggagatcggaggaggcgg ctccggcggagggtgatcagattcagctggcagtcgggttcagaattgaagaaccag gagcctcggtaaggtcagctgcaaggcatcagggtacatctcactaactacggcatgaact ggggtgccaggctccggacagggctggagtgatgggatggatcaacacttacaccg gggagtcaactactcggctgacttaaggccggtttgttctccctcgaactagcgtgagc accgcctatctcaaatcaacgccctcaaggcgggaagataccgccctactactgcgaaga tccggtgggtacgatccgatgattattggggacagggaaaccactgtcaccgtgagcagcac cactaccacagcaccgagggcaccaccccggctcctaccatgectcccagcctctgtccc</p>
		<p>tgcgtcggaggcatgtagaccgcagctgggtggggcctgcataccggggtcttgacttc gcctgcgatactacattggcccctctggctggtacttcggggctcgtgctgcttactcgtg atcactcttactgtaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaacctcatgag gcctgtgcagactactcaagaggagcggctgttcatgcccgttccagaggaggaggaa ggccgctgcgaactgcgctgaaattcagccgacgcagatgctccagcctacaagcagg ggcaagaaccagctctacaacgaactcaatcttggctcggagagagtagtagcagctgctggac aagcggagaggacggaccagaatgggcgggaagcgcgcagaagaatccccaaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcagattggtatg aaagggaacgcagaagaggcaagccacgacggactgtaccaggactcagcaccgc caccaaggacacatgacgctcttccatgcaggcctcggcctcgg</p>
CAR1-Completo-aa	41	

Nombre	SEQ ID NO:	Secuencia
CAR 1		
CAR2 - scFv Soluble - aa	45	malpvta1llplalllhaarpdvltqspdslavslgeratincrasesvdnygnntfmhwyqqkpgppklliyrasnlesgvpdrfsgsgrtdf1tisslqaedvavyycqqsenedpptfgqqtgleikgggsgggsgggsgggsgggsgqqqlvqsgaevkkpgasvkvscasgyiftnygmnmwvrqapqqrlewmgwintygestysadfkgrvtitldtsastaymelsslrsedtavyycarsggydpmdywqgtvtvssgshhhhhhhh
CAR 2 Completo - nt	46	atggcctccctgtaccgacctgctctcctcgctgctctctgctccacgctcggcccgataftgtcctactcaatccgactgactgctgctctcctcggagagagggcgacatcaattgcccgggtccgaatcctgataactacggaacacctttatgactggtaccaacagaggcaggacagccacaagctgtgatctaccgctcgaaccttcacccatcagctcctgagccgaagatgtcggctcttactgccaacagagcaacgaagatccgctcttccgacagggactaaactggaaatcaagggcgaggagctcggtggagggaggtcgggagggcggtcgggtggtggcgatcgaatccagctggtgagtcggcgagaagtgaagaagccggagcgtccgtgaaagtgtgcaaggcctcaggtacatctaccacaaftaccgcatgaatfggtgctggcagcaccggcagcgcctgagtgatgggctggatcaaaccttaccgggaaagcactgaccggcactcaaaaggacgggtgaccattaccctggatacctggcctcaaccgttactagagctctcatcactagatccgaggaactgctactgctgcaagagcggaggtacgaccctatggactatgggacaaggcactactgctgctgtgcttaccactaccagcagcaccaccccgctcctaccatgctcaccagcctgtgcctgcctggaggcagtagaccgcagctggggcgccatgaccgggctgtgactgatactacatftggccccctctggctgtgactgtcggggctgctgctgctgtgatacctttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgacatctttaagcaaccctcatgagcctgtgagactcaagaggagcagcgtttcatgcccgtccagaggaggaggaaggcagaaccagctcacaacgaactcaatctggcggagagaggtacgactgctggacaagcgagaggcaccagaatggcggggaaagccgcagaaagaatcccaaggggcctgtacaagactccaaaggataagatggcagaagcctatagcagatgtgtaaaaagggcagagaagggcaagggcactgtaccaggactcagaccgccaagggacacatgatgctctcatgacagccctgcccgcctg
CAR2- Completo-aa	47	Malpvta1llplalllhaarpdvltqspdslavslgeratincrasesvdnygnntfmhwyqqkpgppklliyrasnlesgvpdrfsgsgrtdf1tisslqaedvavyycqqsenedpptfgqqtgleikgggsgggsgggsgggsgggsgqqqlvqsgaevkkpgasvkvscasgyiftnygmnmwvrqapqqrlewmgwintygestysadfkgrvtitldtsastaymelsslrsedtavyycarsggydpmdywqgtvtvssgshhhhhhhh
CAR 3		
dominio CAR3	scFv de 48	Eivltqspatls1speratls1scrasesvdnygnntfmhwyqqkpgqaprrliyrasnlesgip

ES 2 814 962 T3

CAR 3		
		arfsgsgsrtdfltlisslepedvavyycqqsnedpptfgqgtkleikgggsgggsggggsgggsgggsgqqlvqsgselkpgasvkvscasgyifnygmnwvrqapggglewmgwintytgestysadfkgrfvsltdsvstaylorinalkaedtavyycarsggydpmdywgqgtvtvss
dominio scFv de CAR3 nt	49	Gaaattgtgctcacgcaatcacccgccactctgctcgtttcccgagagcgggccacctctctgccgcgttcggaatcggctcgcacaattacggaatactttatgactggtaccaacagaagccaggcgagcgccaaggctgctgatctacagagcctcgaacctcgaagcgccatccctgcccgggtcagcggtagcggaaagccgcaccgattccacctgacctctcatctggagccggagatgtggcagtgactattgtcagcagtcgaacaggaccgcccactttcggcgaggaaaccaagctggaatacaagggtggaggagggagcggcgaggagggatcgggaggaggaggcagcggaggatcgcaatccaactgtccagtcgggctccgaactcaaaagcctggcgcgtccgtgaaggctcagctgcaaaagcatcaggatacatcttactactacggatgaattgggtcagacaggctccgggtcagggtctggagtggatggatggattaacacctacactgggaatcgactactccggacttcaaggcggtctgttttactggacaccagcgtgtccaccgttacttgcaaatcaacgccctcaaggccgaggaccggcggtactactgcgacgctcaggcgatacgatcgaatggactactggggacagggcactacgggtactgtgtctcc
CAR3 - scFv Soluble - nt	50	atggccctcctgtcaccgccctgctcgtccgctggctcttctgctccacgcgctcggcccgaattgtgctcacgcaatcacccgccactctgctcgtttcccgagagcgggccacctctctgcccgcgttcggaatcggctcgcacaattacggaatactttatgactggtaccaacagaaaggcggcagcgccaaggctgctgatctacagagcctcgaacctcgaagcggcctcctgcccgggtcagcggtagcggaaagccgcaccgattccacctgacctctcatctggagcggaggtgtggcagtgactattgtcagcagtcgaacaggaccgcccactttcggcgagggaaccaagctggaatacaagggtggaggagggagcggcgaggagggatcgggaggaggaggcagcggaggcgaggatcgcaatccaactgtccagtcgggctccgaactcaaaagcctggcgcgtccgtgaaggctcagctgcaaaagcatcaggatacatcttactactacggatgaattgggtcagacaggctccgggtcagggtctggagtggatggatggattaacacctacactgggaatcgactactccggacttcaaggcggtctgttttactggacaccagcgtgtccaccgttacttgcaaatcaacgccctcaaggccgaggaccggcggtactactgcgacgctcaggcgatacgatcgaatggactactggggacagggcactacgggtactgtgtctcggctcgaccaccatcacatcacaccac
CAR3 - scFv Soluble - aa	51	malpvalllplalllhaarpeivltqspatlspsgeratlsrascsvdnyntfmhwyqqkpgqaprlliyasnlsgiparfsgsgsrtdfltlisslepedvavyycqqsnedpptfgqgtkleikgggsgggsgggsgggsgqqlvqsgselkpgasvkvscasgyifnygmnwvrqapggglewmgwintytgestysadfkgrfvsltdsvstaylorinalkaedtavyyarsggydpmdywgqgtvtvssgshhhhhhhh
CAR3-Completo-nt	52	atggccctcctgtcaccgccctgctcgtccgctggctcttctgctccacgcgctcggcccgaattgtgctcacgcaatcacccgccactctgctcgtttcccgagagcgggccacctctctgcccgcgttcggaatcggctcgcacaattacggaatactttatgactggtaccaacagaaaggcggcagcgccaaggctgctgatctacagagcctcgaacctcgaagcggcctcctgcccgggtcagcggtagcggaaagccgcaccgattccacctgacctctcatctggagcggaggtgtggcagtgactattgtcagcagtcgaacaggaccgcccactttcggcgagggaaccaagctggaatacaagggtggaggagggagcggcgaggagggatcgggaggaggaggcagcggaggatcgcaatccaactgtccagtcgggctccgaactcaaaagcctggcgcgtccgtgaaggctcagctgcaaaagcatcaggatacatcttactactacggatgaattgggtcagacaggctccgggtcagggtctggagtggatggatggattaacacctacact

ES 2 814 962 T3

CAR 3			
			<p>ggggaatcgacttactccgcgacttcaagggcggttcgtgttttactggacaccagcgtgtccaccgcttacttgcaaatcaacgacctcaaggccgaggacaccgctgtactactgcgca cgetcaggggatacgaatgactactggggacagggcactacgggtgactgtgtcctc caccactacccagcaccgagggcaccaccggctcctaccatgctcccagcctctgt cctgctcgggagcatgtagaccgcagctggggggcctgcataccggggtcttga ctfcgctgcgatatctacattgggccctctggctgtactgctggggtcctgtcttact cgtgatcactcttactgtaagcggctcgaagaagctgtgtacatcttaagcaaccttcat gaggcctgtgcagactactcaagaggagggcgtgtcatgcccgggtccagaggaggag gaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccgagcgcagatgctccagcctacaagc aggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggctggagagaggagtacgctgtc ggacaagcggagagggcggaccagaatggcggggagccgagcagaagaatccc caagaggcctgtacaacgagctcaaaaggataagatggcagaagcctatagcagattg gtatgaaaggggacgcagaagaggcaagggccagcagcagcactgtaccagggactcagc accgccaccaaggacacatgacgctcttccatgaggccctgcccctcgg</p>
CAR3-Completo-aa	53		<p>Malpvtallplallhaarpeivltqspatlspsgeratlscrasesvdnygnfmhwyqq kpgqaprlliyrasnlesgiparfsgsrtdflttisslepedvavyycqqs nedpptfgqg tkleikgggsgggsgggsgggsgggsgqqlvqsgselkkpgasvkvsckasgyifnyg mnwvrqapqglewmgwintytgestysadfkgrfvfsltdtsvstaylqinalkaedta vyycarsggydpmdywgqgtvtvsssttpprppptaptiasqplsrpeacpraaggav htrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqqtqeedgcscr fpeceegcclrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgreedyvldkrrgrdpemggkpr rknnpqeglynelqkdkmaeyseigmkgerrrgkghdglyqglstatktdtydalhmqa lppr</p>
CAR 4			
dominio CAR4	scFv	de	54
			<p>Eivltqspatlspsgeratlscrasesvdnygnfmhwyqqkpgqaprlliyrasnlesgip arfsgsrtdflttisslepedvavyycqqs nedpptfgqgkcleikgggsgggsgggsgggsgggsgqqlvqsgacvkkpgasvkvsckasgyifnygmnwvrqapqrlwmgwi ntytgestysadfkgrvttitltdtsastaymelslrsedtavyycarsggydpmdywgqgtt vtvs</p>
dominio CAR4 nt	scFv	de	55
			<p>Gagatcgtcttgacgcaatgccagccacctgtccctgagcccaggcagcgcgccacc tcagctgctgggagcgaagcgtggacaattacggaacacctttatgactgttaccac agaaaccgggagcgtccgcctcctcatctaccgcgatccaatctggaatcaggaatc cccgcgaggttctccgtagcggatcggcactgacttactctgaccatctgctccctgga cggaggatgtgctgtgtattactgccagcagcaaacaggaccctcaacttccggcagg gaaccaagctcgaatcaagggcggggcgaagcggaggaggagatcagcggagg cggctcagggcgggaggtcacaattcaactggtgcagtcgggagcggaggtcaagaag ccgggagcctcagtgaaagtgagctgcaaggctcgggttacatttactaatactggatga actgggtgagcaggcccctggccaacggttggaatggatggatgatacaacactacac cgggagtcgacttactccgcggactcaaggggagagtcacgatccctggatagctccg caagcactgcctacatggaactgtcctcctcctgcgctcgaagataccgagctactactgc cagatcgggaggatgacccgatgactactggggacagggaactactgtcaccgtgtcc tcg</p>
CAR4 - scFv Soluble - nt			56

CAR 3		
		<p>atggcctcctgtcaccgcctgctgcttcgctggcttctgctccacgccgctcgcccg agatgcttgacgcaatgccagccacctgctcctgagccaggcgagcgccaccctc agctgtcggcgagcgaagcggtgacaattacggaacacctttagctggtaccaaca gaaaccggggcaggctccgctcctcatctaccgcatcaatctggaatcaggatcc</p>
		<p>ccgcgaggttcccggtagcggatcgcgactgactttactctgaccatctgctcctgaacc ggaggatgtggctgttattactgccagcagtcacaacgaggaccctcaactttcgggcagg gaaccaagctcgaatacaaggcggctggcggaagcggaggaggagatcaggcgagg cggctcaggcggtggaggtcaaaaattcaactggtgcagtcgggagcgaggtaagaag ccggagcctcagtgaaagtgagctgcaaggcttcgggtacatttactaattaccgcatga actgggtgaggcaggccctggccaacggtggaatggatggatggaataaacactacac cgggagtcgacttactcggcgacttcaaggggagagtcacgacaccctggatagctccg caagcactgctacatggaactgtcctcctgctcgcctggaagataccgagcttactactgctc ccagatcggcggtatgatcccgatggactactggggacagggaactactgtaccgtgctc tcgggctgcaccacatcaccatcatcaccac</p>
CAR4 - scFv Soluble - aa	57	<p>malpvfallplallhaarpeivltqspatlspsgeratlsrasesvdnygntfnehwyqqk pgqaprlliyrasnlesgiparfsqgsrtdflitisslepedvavyyccqsnedpptfgqtkl eikggggsgggsgggsgggsggqqlvqsgaevkkgasvkvsckasgyiftnygmn wvrqapqrlwmgwintytgestysadfkgrvtiltdtsastaymellsrsedtavyyca rsgydpmdywgqgtvsvssghhhhhhhh</p>
CAR 4 - Completo - nt	58	<p>atggcctcctgtcaccgcctgctgcttcgctggcttctgctccacgccgctcgcccg agatgcttgacgcaatgccagccacctgctcctgagccaggcgagcgcggcaccctc agctgtcggcgagcgaagcggtgacaattacggaacacctttagctggtaccaaca gaaaccggggcaggctccgctcctcatctaccgcatcaatctggaatcaggatcc ccgcgaggttcccggtagcggatcgcgactgactttactctgaccatctgctcctgaacc ggaggatgtggctgttattactgccagcagtcacaacgaggaccctcaactttcgggcagg gaaccaagctcgaatacaaggcggctggcggaagcggaggaggagatcaggcgagg cggctcaggcggtggaggtcaaaaattcaactggtgcagtcgggagcgaggtaagaag ccggagcctcagtgaaagtgagctgcaaggcttcgggtacatttactaattaccgcatga actgggtgaggcaggccctggccaacggtggaatggatggatggaataaacactacac cgggagtcgacttactcggcgacttcaaggggagagtcacgacaccctggatagctccg caagcactgctacatggaactgtcctcctgctcgcctggaagataccgagcttactactgctc ccagatcggcggtatgatcccgatggactactggggacagggaactactgtaccgtgtcc tcgaccactaccagcaccgagggaccaccaccggctcctaccatcgctcaccgctct gtccctgctccggagcatgtagaccgagctggtgggcccgtgataaccgggtcttg acttcgctgcatatctactttgggcccctctggctgtgacttgcgggctcgtctcttac tctgtactactttagctgaaagcgggtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaaccctca tgaggctgtgcagactactcaaggaggagcggctgtatgcccgtccagaggaggga ggaaggcggctcgaactcgcgtgaaatcagccgcagcgcagatgctccagcctacaag cagggcgagaaccgctctacaacgaactcaatctggtcggagaggagtagacgtgct ggacaagcggagagagcgggaccagaaaatgggggggagccgcgagaagaatccc caagagggcctgtacacagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattg gtatgaaggggacgagaagaggcaaggccacgacggactgtaccagggactcagc accccaccaaggacacctatgacgtcttcacatgacggccctgcccctcgg</p>
CAR 4 - Completo - aa	59	

CAR 3	
	Malpvtalllplalllhaarpeivltqspatlspsgeratls <u>crasesvdnyntfmh</u> wyqq kpgqaprlly <u>rasnles</u> giparfsgsgrtdfltisslepedvavyyc <u>qgsnedppt</u> fgqg tkleikgggsgggsgggsgggsgggsggiqlvqsgaevkkpgasvkvscasgyift <u>nyg</u> <u>mn</u> wvrqapgrlewmg <u>wintvtgestysadfkgr</u> vtiltdtsastaymelsslrsedtav yycars <u>sggydpm</u> dywgqgtvtvssttpaprptpaptiasqplslrpeacrpaaggavh trgldfacdiywaplagtcgvlslsvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscr peceeggcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrrreedyvldkrrrdpemggkpr
	rknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqal ppr

CAR 5	
dominio scFv de 60 CAR5	Qlqlvqsgselkkpgasvkvscasgyiftnygmwvrqapggglewmgwintytge stysadfkgrfvsltdsvstaylqinalkaedtavyyccarsgydpmdywgqgtvtvs ggsgggsgggsgggsgggsgggdivltqspdslavlgeratinerasesvdnyntfmhwyq qkpgppklliyrasnlesgvpdrfsgrtdfltisslqaedvavyycqgsnedpptfgq gtkleik
dominio scFv de 61 CAR5 nt	Cagatccagttggtccagtcaggctccgaactgaaaagccgggtgcatccgtcaagggtc gtgcaaagcctcgggttacatfttcaccaactacggcatgaactgggtccgaccgccccctgg gcagggactcgaatggatggggtgatcaacactacaccggagagtcgactaetccggccg attcaaggagcgggttcgttttccctggacactcagtcctcgaccgatactccaaatcaacg cgctaaggcggagatactgctgtactactgcgccagatcaggaggtacgatccaatgg actactggggacagggacaccactgtgacggtgctgctcgggagaggagatcggcgagg ggcggtccggcggtggaggagcgggaggagcggagcgaagcgacatcgtctgaccagtcg ccagatagcctggcggtgctctgggtgagagggtaccatcaattgctcgcgctcagagtc gtggacaattacggaatactcatgactggtaccaacaaaagccccgacaaccgccgaa gtgctgatctacagagcaagcaacctgcaatcaggagtgccggaccgctttagcgggtcag gaagccggactgacttcacctgactatctcctcgtccaggccgaggacgtggccgtgatt actgccagcagagcaacgaagatctccaacgtcggccaaggaaccaactggagattaa g
CAR5 - scFv Soluble - nt	atggccctcctgtcaccgcctgctgcttccgctggctcttctgctccacgcccgtcggcccc agatccagttggtccagtcaggctccgaactgaaaagccgggtgcatccgtcaagggtgctg gcaaagcctcgggttacatfttcaccaactacggcatgaactgggtccgaccgccccctggc agggactcgaatggatggggtgatcaacactacaccggagagtcgactaetccggccgatt tcaagggacgggtcgttttccctggacactcagtcctcgaccgatactccaaatcaacg cctaaggcggagatactgctgtactactgcgccagatcaggaggtacgatccaatggact actggggacagggacaccactgtgacggtgctgctcgggagaggagatcggcgaggaggc gggtcggcggtggaggagcgggaggagcggagcgaagcgacatcgtctgaccagtcgcc agatagcctggcggtgctctgggtgagagggtaccatcaattgctcgcgctcagagtcggt ggacaattacggaatactcatgactggtaccaacaaaagccccgacaaccgccgaa ctgctgatctacagagcaagcaacctgcaatcaggagtgccggaccgctttagcgggtcagg aagccggactgacttcacctgactatctcctcgtccaggccgaggacgtggccgtgatta ctgccagcagagcaacgaagatctccaacgtcggccaaggaaccaactggagattaa ggtcgcaccaccatccatcatcaccac
CAR5 - scFv Soluble - aa	63

ES 2 814 962 T3

CAR 5			
dominio CAR6 nt	scFv	de	67 cagatccaactggtgcaatcaggatcggagctgaagaagcctggggcttcagtgaagtcag ctgcaaagcctccgggtacatcttcaccaactacggcatgaactgggtgcccaggcccctgg acagggactcgaatggatggggtggatcaacacctataccggggaatccacgtactcagcag attcaaggagcgttcgtcttttcgctggatacctcgtgtccactgcgtacctccaaatcaatg ccctcaaagccgaagatactgaggctactactgcgcacggagcggaggctacgacccgat ggactactggggacaggggaaccacggtgaccgtgtccagcggaggaggcgatcgggag gagggtggtcaggcgggtggaggcagcggcggagggtggaagcgaatcgtctgactcaga gcccagcgaactttgcctgtcggcggagagcgggcaactctgtcatgccgcgttcggaat cgggtggacaactatgaaacacctttatgactggtaccaacagaagccgggacaagccccg agactctgatctaccggcctcgaatctcgaagcggcatcccggctagattctcggggtc ggatcaaggaccgactcactctactattctcactggagccagaagatgtggcgggtgacta ctgtcagcagccaatgaggaccgcccaactttcgggcagggcaccgaagctggagattaag
CAR6 - scFv Soluble - nt			68 atggccctcctgtcaccgcctgctgcttccgctggctcttctgtccacgccgctcggcccc
			agatccaactggtgcaatcaggatcggagctgaagaagcctggggcttcagtgaagtcagc tgcaaagcctccgggtacatcttcaccaactacggcatgaactgggtgcccaggcccctgga cagggactcgaatggatggggtggatcaacacctataccggggaatccacgtactcagcaga ttcaaggagcgttcgtcttttcgctggatacctcgtgtccactgcgtacctccaaatcaatg cctcaaagccgaagatactgaggctactactgcgcacggagcggaggctacgacccgatg gactactggggacaggggaaccacggtgaccgtgtccagcggaggaggcgatcgggagg cgggtggtcaggcgggtggaggcagcggcggagggtggaagcgaatcgtctgactcagagc ccagcgaactttgcctgtcggcggagagcgggcaactctgtcatgccgcgttcggaatc gtggacaactatgaaacacctttatgactggtaccaacagaagccgggacaagccccgag actctgatctaccggcctcgaatctcgaagcggcatcccggctagattctcggggtcggg atcaaggaccgactcactctactattctcactggagccagaagatgtggcgggtgactact gtcagcagccaatgaggaccgcccaactttcgggcagggcaccgaagctggagattaaggg ctgcaccaccatcaccatcatcaccac
CAR6 - scFv Soluble - aa			69 malpvtalllplalllhaarpqqlvqsgselkkpgasvkvscasgyiftnygmnwvrqa pgqglewmgwintytgestysadfkgrfvsltsvstaylqinalkaedtavyycarsgg ydpmdywgqgtvtvssggsgggsgggsgggsggggseiVltqspatlsIsperatlsr asesvdnygntfmhwyqqkpgqaprlliyrasnlesgiparfsgsgrtdfItIsslepedv avyycqqsnedpptfgqtkleikgshhhhhhhhh
CAR6 - Completo - nt			70

CAR 5		
		<p>atggccctcctgtcaccgcctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgctcgcccc agatccaactggtgcaatcaggatcggagctgagaagcctggggcttcagtgaaagtacgc tgcaaagcctccggttacatctccaccaactacggcatgaactgggtgcgccaggcccctgga cagggactcgaatggatggggtggatcaacacctataccggggaatccactactcagcaga ttcaaggagcgttcgcttttgcgtggatactcctggtccactgctacacccaatcaatgc cctcaaacccgaagatactgctggtactactgctgcacggagcggaggctacgaccgatg gactactggggacagggaaaccacggtagccgtgctcagcggaggagggcggatcgggagg cgggtgttcaggcgggtggagcagcggcggagggtggaagcgaatcgtctgactcagagc ccagcgaacttgcctctgcgccggagagcgggcaactctgcatgccgccttcggaatgc gtggacaactatgaaacacctttatgactgttaccaacaagaagcgggacaagccccgag actctgatctaccggcctcgaatctcgaagcggcaccggctagattctcgggtcggg atcaaggaccgacttactcttactatctcactggagccagaagatgtggcgggtactact gtcagcagtcgaatgaggaccgccaaacttccggcagggcaccgaagctgagattaagac cactaccagcaccgaggccaccaccggcctctaccatgcctccagcctctgtccc tgcgtccggaggcatgtagaccgcagctgggtggggcggctacaccggggtcttgacttc gcctgcgatatctacattggggccccctgctgctgacttgcgggctcctcctccagcctctgtccc atcactttactgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatcttaagcaacctctatgag gcctgtgcagactactcaaggaggagacggctgttcattccgggtcccagaggaggagaa ggccgctgcgaactcgcggtgaaattcagccgcagcgagatgctccagcctacaagcagg ggcaagaaccagctctacaacgaactcaatcttgctggagagaggagtacgacgtctggac aagcggagaggacgggaccagaatggcgggaagccgcgagaagaatccccaaag agggcctgtacaacgagctcaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattggtatg aaagggaacgcagaagaggcaaaaggccagcaggactgtaccagggactcagcaccgc caccaaggacacctatgacgtcttcatcagggcctgcccgcctcg</p>
109375	CAR6 Completo - aa	- 71
		<p>Malpvtalllplalllhaarpqqlvqsgselkkpgasvkvscasgyift<u>nygmn</u>wvrqa pqqglewmgwintygestysadfkgrfvfsltdsvstaylqinalkaedtavyycarsgg <u>vdpm</u>dywgqgtvtvssgggsgggsgggsggggseivltqspatlsipgeratisc <u>rasesv</u><u>dn</u>gntf<u>mh</u>wyqqkpgqaprlliy<u>rasnles</u>giparfsghsgrtdfilitisslepe</p>
		<p>dvavyycc<u>qqs</u><u>ned</u><u>ppt</u>fgqgkเลิกttpprptpaptiasqplsrlpeacrpaaggav htrglfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrvpvtqeedgcscr fpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgrceydvldkrrgrdpemggkp rrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqlstatkdydalhmqa lppr</p>
CAR 7		
dominio CAR7	scFv de	72
		<p>Qiqlvqsgaevkkpgasvkvscasgyiftnygmnwvrqapqqrlewmgwintyge stysadfkgrvtiltdtsastaymelslrsestavyycarsggydpmdywgqgtvtvssg gggsgggsgggsgggsgggsdivltqspdslavslgeratincrasesvdnynntf<u>mh</u>wyq qkpgppklliy<u>rasnles</u>gvprfrfsghsgrtdfilitisslqaedvavyycc<u>qqs</u><u>ned</u><u>ppt</u>fgq gtleik</p>
dominio CAR7 nt	scFv de	73

ES 2 814 962 T3

CAR 7		
		Cagatccagctggtgcagtcgggagctgaagtgaaaagccgggagcatcggtgaaggtg tcatgcaaagccagcggttacatcttcaactacggatgaactgggtgagacaagcgcct ggccagagattggaatggatgggatggaataacacacaccggggaatcaactacagcgc cgactcaagggacgcgtgaccatcacgctggacacctccgctccactgctacatggagc tctcgtcattgaggagcaggacaccgcttactactgcgacgggtcaggagggtacgat ccgatggactactggggacagggcactaccgtaccgtgagctccgggtggaggcggcagc ggcgggtggcggatcagggtggaggagatcaggaggaggagggtccgatacgtgcttactc agtcacccgattcgtggcagctctccctcggagaacgcgccaccatcaattgctgcgcgtccg aatccgtcgacaactacggcaacaccttatgcaactggtaccaacagaagcctggacaaccg ccaaaactgctgatctaccgcgtagcaacctcgaatcggcggtgacagatagggtctcgggc tcggggagccggacggatftactctgactatftcgtccctccaagcagaggacgtcgcggtg attactgccaagcaatgaaatgaggaccgcccaacttcggacaggggaccaagctggagatt aag
CAR7 - scFv Soluble - nt	74	atggcctccctgtcaccgcctgctgcttccgctggtcttctgctccacgccgctcggcccc agatccagctggtgcagtcgggagctgaagtgaaaagccgggagcatcggtgaaggtgct atgcaaagccagcggttacatcttcaactacggatgaactgggtgagacaagcgcctgg ccagagattggaatggatgggatggaataacacacaccggggaatcaactacagcgcgc actcaagggacgcgtgaccatcacgctggacacctccgctccactgctacatggagctct cgtcattgaggagcaggacaccgcttactactgcgacgggtcaggagggtacgatcc gatggactactggggacagggcactaccgtcaccgtgagctccggtggaggcggcagcgg cgggtggcggatcagggtggaggagatcaggaggaggagggtccgatacgtgcttactcag tcaccgattcgtggcagctctccctcggagaacgcgccaccatcaattgctgcgcgtccgaa tccgtcgacaactacggcaacaccttatgcaactggtaccaacagaagcctggacaaccgcc aaaactgctgatctaccgcgtagcaacctcgaatcggcggtgacagatagggtctcgggctc ggggagccggacggatftactctgactatftcgtccctccaagcagaggacgtcgcggtgat tactgccaagcaatgaaatgaggaccgcccaacttcggacaggggaccaagctggagattaa gggctcgaccaccatcaccatcaccaccac
CAR7 - scFv Soluble - aa	75	malpvtallplalllhaarpiqlvqsgaevkpkpgasvkvsckasgyifnygmnwvrqa pgqrlewmgwintytgestysadfkgrvtildtsastaymelsslrsedtavyycarsggy dpmdywgqgtvtvssgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsgggsg asesvdnygntfmhwyqqkpgppklliyasnlesgvprfsgsgrtdfiltisslqaed vavyycqqsndpptfgqgkileikgshhhhhhhh
CAR7-Completo-nt	76	atggcctccctgtcaccgcctgctgcttccgctggtcttctgctccacgccgctcggcccc

ES 2 814 962 T3

CAR 7	
	atccgtggacaattacggaacacgtttatgactggtaccaacagaaccaggacaggcgcc ctagacttctcatctaccgcgagcaattggaatccggcatcccagcccgttctccgggctc ggggtcacgcaccgattcactctgaccatttctccctggaacccgaggacgtggcagtcta ctactgccagcagtcgaatgaggaccgccaccttcggacaggccaccaagctggagatt aag
CAR8 - scFv Soluble - nt	80 atggcctcctgtcaccgcctgctgttccgctggcttctgctccacgccgctcggcccc agatccagctggtgcaatcgggagctgaagtgaagaagcccggagctcagtaaaagtcag ctgcaagcgtcgggtatatacttaccactacgggatgaactgggtcggcaggccctg gacaaagactggaatggatggatggaatacaactatactggcgagagcagctactcagcc gacttaaggacgggtgactatcaccctcgatacctccgctccactgctgacatggaactt cgtccttgcgctccgaggacactgctgtactactgcccaggctgggtggctacgatccga tggactactggggtcaaggaaccaccgctcactgtgtctccggcggaggcgggagcggagg tgggtggtcgggagggaggggtcaggcggaggaggcagcgaatcgtgctgacccaag cccggcaactctgtcactcagcccaggggagaggcaacctgtcatgtcgggctagcgaat ccgtggacaattacggaacacgtttatgactggtaccaacagaaccaggacaggcgcc agacttctcatctaccgcgagcaattggaatccggcatcccagcccgttctccgggtc gggtcacgcaccgattcactctgaccatttctccctggaacccgaggacgtggcagctact actgccagcagtcgaatgaggaccgccaccttcggacaggccaccaagctggagattaa gggctcgcaccaccatcaccatcatcaccac
CAR8 - scFv Soluble - aa	81 malpvtallplallhaarpiqlvqsgaevkppgasvkvscasgyifnygmwvrqa pgqrlewmgwintygestysadfkgrvtildtsastaymelslrsedtavyycarsggy dpmdywgqgtvtvssgggsgggsgggsgggscivltqspatlspsgeratlsra sesvdnyngntfmhwyqqkpgqaprlliyrasnlesgiparfsgsrdftlftisslepda vyyeqqsnedpptfgggtkileikgshhhhhhhhh
CAR8-Completo-nt	82 atggcctcctgtcaccgcctgctgttccgctggcttctgctccacgccgctcggcccc agatccagctggtgcaatcgggagctgaagtgaagaagcccggagctcagtaaaagtcag ctgcaagcgtcgggtatatacttaccactacgggatgaactgggtcggcaggccctg gacaaagactggaatggatggatggaatacaactatactggcgagagcagctactcagcc gacttaaggacgggtgactatcaccctcgatacctccgctccactgctgacatggaactt cgtccttgcgctccgaggacactgctgtactactgcccaggctgggtggctacgatccga tggactactggggtcaaggaaccaccgctcactgtgtctccggcggaggcgggagcggagg tgggtggtcgggagggaggggtcaggcggaggaggcagcgaatcgtgctgacccaag cccggcaactctgtcactcagcccaggggagaggcaacctgtcatgtcgggctagcgaat ccgtggacaattacggaacacgtttatgactggtaccaacagaaccaggacaggcgcc agacttctcatctaccgcgagcaattggaatccggcatcccagcccgttctccgggtc gggtcacgcaccgattcactctgaccatttctccctggaacccgaggacgtggcagctact actgccagcagtcgaatgaggaccgccaccttcggacaggccaccaagctggagattaa gaccactaccagcaccgaggccaccaccggctctaccatgcctcccagcctctgt cctgctcggaggcatgtagaccgcagctgggtggggcctgcataccggggtcttga cttcgctcggatctacattgggcccctctggctggtacttgcgggctctgctgttctact cgtgatcacttctactgaagcgcggtcgaagaagctgctgtacatcttaagcaaccttcat gaggcctgtgcagactactcaagaggagggacggctgttcatgcccggftccagaggag gaaggcggctgcgaactgcgctgaaattcagccagcgcagatgtccagctacaagc aggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggctcggagagaggagtagcagctgt ggacaagcggagagacgggaccagaatggcgggagccgcgcgagaagaatccc

CAR 7	
	caagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagattg gtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaggccacgacggactgtaccaggactcagc accgccaccaaggacacctatgacgctcttccatgcaggccctgccgctcgg
CAR8-Completo-aa	83 Malpvtallplalllhaarpiqlvqsgaevkpkpgasvkvsckasgyift nygmn wvrq apqqrlewm winty gestysadfkgr rvtitldtsastaymelsslrsedtavyycars gg ydpmdy wgqgtvtvssgggsgggsgggsgggsgggscivltqspatlsispgeratfsc rasesvdnyntfmh wyqkpgqaprlliy rasnles giparfsghsgrtdflitisslepe dvavyyc qgsnedppt fgqgkcleikttpprppptpaptiasqplsrlpeacrpaaggav htrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkklllyfkqpfmrpvqttqeedgcscr fpeceeggcelrvkfrsradapaykqgnqlynelnlgrreydvldkrrgrdpemggkp rrknpqeglynelqkdkmaeyseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtaldhmq lppr

Tabla 2. Secuencias CAR CD123 a modo de ejemplo para la transcripción in vitro

Nombre	SEQ ID	Secuencia
pD-A(xs)dsREDT2ACD123 CAR 1172 - nt	94	GGCAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGCctagagc caccatggccctgectgtgacagccctgctgctgectctggctctgctgctgcatg ccgctagaccggatccgacatcgtgctgacacagagccctgcttccctggccgtg tcctgggacagagagccacaatcagctgcagggccagcgagagcgtggacaacta cggcaacaccttcatgcaactggtatcagcagaagcccgccagcccccaagctgc tgatctacagagcagcaacctggaaagcggcatccccgccagattttccggcagc ggcagcagaaccgacttaccctgacctcaacccccgtggaaagccgacgacgtggc cacctactactgccagcagagcaacgaggacccccacat ttggagccggcacca agctggaaactgaaggcggagcggatctggcggcggaggatcttctgggggaggc tctcagatcagctggtgcagagcggcccagagctgaagaaacccggcgagacagt gaagatctctgcaaggcctccgctacatcttccaattacggcatgaactggg tcaagcagggccctggcaagagcttcaagtggatgggctgga tcaaacctacacc ggcagagcactacagcggcacttcaaggcagattcgcctcagcctggaaac cagcggcagcaccgctacctgacatcaacgacctgaagaacgaggacaccgcca cctatttctgcgccagaagcggcggctacgacccccatggattat tggggccagggc accagcgtgaccgtgctcctctgctagctccggaaccacgacgacgcccgcgacc accaacaccggcgccccaccatcgctgcaagccctgctcctgcgcccagaggcgt gccggccagcggcggggggcagtgacacagaggggctggacttcgcctgtgat atctacatctgggccccttggccgggacttgtggggtccttctcctgtcaactggt tatcacccttactgcaaacggggcagaagaactcctgtatattcaaacac catttatgagaccgtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgattt ccagaagaagaagaaggaggatgtgaactgagagtgaaagttagcaggagcgcaga cgcccccgctacaagcaggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggac gaagagaggatagcatgttttgacaagagacgtggccgggaccctgagatgggg gaaagccgagaaggaagaacctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaga taagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgaagcggcgggggca aggggcacgatggccttaccagggtctcagtagcaccaccaaggacacctacgac gccttccatgacagccctgccccctcgctaagtgcacAGCTCGCTTTCTTGCTG TCCAATTTCTATTAAAGGTTCCCTTGTTCCCTAAGTCCAACACTAACTGGGGGA TATTATGAAGGGCCTTGAGCATCTGGATTCTGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCA TTGCTGCGTCGAGAGCTCGCTTTCTTGCTGTCCAATTTCTATTAAAGGTTCCCTTG TTCCCTAAGTCCAACACTAACTGGGGGATATTATGAAGGGCCTTGAGCATCTGG ATTCTGCCTAATAAAAAACATTTATTTTCATTGCTGCTCGACGaattcaaaaaaa
		aa aa aa
pD-A(xs)dsREDT2A CD123CAR 1172 - aa	95	

Nombre	SEQ ID	Secuencia
		<p>Malpvtalllplalllhaarpgsdivltqspaslavslggratisc<u>rasesvdnyg</u> <u>ntfmh</u>wyqqkpgqppklliy<u>rasnles</u>giparfsgsgrtdftltinveaddvat yycc<u>qgsnedppt</u>fgagtklelkggggsgggsgggsggsgqqlvqsgpelkkggetvk iscakasgyift<u>nygmn</u>wvkqapgksfkwm<u>g</u><u>wintytgestysadfkgr</u>rfafslts astaylhindlknedatayfcar<u>sggydpmdy</u>wgggtsvtvssassgttpprpp tpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvi tlyckrgrklllyifkqpfmrvpvtqeedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsada paykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpqeglynelqkdk maeyseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</p>
<p>pD-A(xs)CD123CAR 1176 - nt</p>	<p>96</p>	<p>atggccctgectgtgacagccctgctgctgctctgctctgctgctgacgccgc tagacctggatcccaggtgacagctgacagcagcctggcgctgaactcgtgcccag gcgcttctgtgaagctgagctgtaaagccagcggctacacctcaccagctactgg atgaactgggtcaagcagcggcccagaccagggcctggagtgatcggcagaatoga cccctacgacagcagacacactacaaccagaagttcaaggacaagccatcctga ccgtggacaagagcagcagcaccgcctacatgcagctgtccagcctgaccagcag gacagcgcctgtactactgcccaggggcaactgggacgactattggggccaggg caccacctgacagtgctagcggaggcggaggatctggcggcgggaggaagtctctg gcggagctccgacgtgcagatcaccagagccctagctacctggccgctctctct ggcgagacaatcaccatcaactgcccggccagcaagagcatctccaaggacctggc ctggatcaggaaaagcccggcaagaccaacaagctgctgactacagcggcagca ccctgcagagcggcatccccagcagatcttccggcagcggctccggcaccgacttc accctgaccatcagctccctggaacccgaggactttgccatgtactattgccagca gcacaacaagtaccctacaccttcggcggaggcaccagctggaaatcaaggcca gctccggagagagcaagtacggccctccctgcccccttggccctgccccgagttc ctggggcagaccagcgtgttctgttcccccaagcccaaggacacctgatgat cagccggacccccgaggtgacctgtgtggtggagcgtgtcccaggaggaccccg aggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaacgccaagaccaag ccccgggaggagcaagttcaatagcacctaccgggtggtgtccgtgctgacctgct gcaccaggactggctgaacggcaaggaatacaagtgaaggtgtccaacaagggcc tgcccagcagcatcagaaaaaccatcagcaaggccaagggccagcctcgggagccc caggtgtacacctgccccctagccaagaggagatgaccaagaaccaggtgtccct gacctgctggtgaagggttctaccccagcagatcgccgtggagtgggagagca acggccagcccagagaacaactacaagaccacccccctgtgctggacagcagcggc agcttcttctctgtacagccggctgacctggacaagagccgggtggcaggagggcaa cgtctttagctgctccgtgatgcacgagccctgcacaaccactacaccagaaaga gcttgagcctgtccctgggcaagatggataatctacatctgggcgccccttggccggg acttgggggtccttctctgtcactggttatcaccctttactgcacaacggggcag aaagaaactcctgtatataattcaacaaccatttatgagaccagtacaactactc aagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggagatgtgaa ctgagagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtacaagcagggccagaa ccagctctataacagactcaatctaggacgaagagaggatcagatgttttgaca agagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaaccctcag gaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagat tgggatgaaaggcagcgcggaggggcaaggggacagatggcctttaccagggctc tcagtacagccaccaaggacacctacgacgccccttcacatgcaggccctgccccct cgc</p>
<p>pD-A(xs)CD123CAR 1176 - aa</p>	<p>97</p>	<p>malpvtalllplalllhaarpgsqvqlqqppaelvrpgasvklscakasgyft<u>syw</u> <u>mn</u>wvkqrpdgglewigr<u>idpydsethynqkfkdk</u>kailtvdksstaymqllslltse dsavyycar<u>gnwddy</u>wgggttltvssggggsgggsgggsggsvdqitqspyslaasp getitinc<u>rasksiskdla</u>wyqekpgktnklliy<u>sgstlqs</u>giprfsfgsgsgtdf tltisslepedefamyycc<u>qghnkpyt</u>fgggtkleikassgeskygppcpapef lggpsvflfppkpkdtlmsrtpvctcvvdvsqedpevfwnvydgvvhnaktk</p>

Nombre	SEQ ID	Secuencia
		preeqfnstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkglpssiectiskakgqprep qvytlppsqeemtknqvsltclvkgyfypsdiavewesngqpennykttppvldsdg sfflysrlltvdksrwqegnvfscsvmhealthhnytkslslslgkmdiyiwaplag tcgvlllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqtqeedgcscrfeeeeeggce lrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprkrnpq eglynelqkdkmaeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalpp r

En SEQ ID NO: 94, los residuos en **negrita en mayúsculas** corresponden a la región T2A; los residuos subrayados corresponden a la región CAR CD123; y los residuos en *cursiva y mayúsculas* corresponden a la región UTR de beta globulina.

5 Las variantes de scFv anti-CD123 humanizadas se expresaron transitoriamente en células HEK293 y se purificaron hasta casi homogeneidad mediante la etiqueta 6xHis C-terminal (SEQ ID NO: 128) (Figuras 28 y 29). Los niveles de expresión de las variantes se determinaron mediante UV280. La expresión se comparó con la del scFv Ctrl de ratón. La unión de las variantes a CD123 inmovilizado se confirmó mediante ELISA, y la CE50 estimada varió de 1 a 10 nM en comparación con la del scFv de ratón parental (~ 1,1-2,6 nM; Figuras 30a y b). La estabilidad térmica de las variantes determinadas como temperaturas de fusión se midió utilizando la fluorimetría de barrido diferencial (DSF). Tal como se muestra en la Figura 31, el scFv de ratón parental mostró una temperatura de fusión de 58,5°C, mientras que las variantes de scFv anti-CD123 humanizadas tenían temperaturas de fusión disminuidas que variaban entre 44°C y 52°C (Figura 31).

15 Alineamiento de la secuencia humanizada con secuencias de ratón (SEQ ID NOS 92, 32, 31, 34, 33 y 93, respectivamente, en orden de aparición):

```

VL
  ratón V1      DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVNDIYGNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASHLES
20  A_VK4_B3    DIVLTQSPDGLAVSLGERATIICRASESVNDIYGNTFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASHLES
  B_VK3_L6     EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVNDIYGNTFMHWYQQKPGQAPRLLIYRASHLES
              :***** :*::* *::**::*****:*****:*****:*****:*****:*****
25  ratón V1      GIPARFSGSGSRTDFTLTITINPVEADDVATYYCQQSNEDEPPTFGAGTKLELK
  A_VK4_B3    GVPDRFSGSGSRTDFTLTITISLQAEDVAVYYCQQSNEDEPPTFGQGTKLEIK
  B_VK3_L6     GIPARFSGSGSRTDFTLTITISLEPEDVAVYYCQQSNEDEPPTFGQGTKLEIK
              *:* *****:.....:..:..:***:***** *****:
30  VH
  C_VH7_7-4.1  QIQLVQSGSELKPKGASVKVSCKASGYIFTHYGMHWVRQAPGQGLEWVGWINTYTGSTY
  D_VH1_1-03   QIQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCKASGYIFTHYGMHWVRQAPGORLEWVGWINTYTGSTY
  ratón Vh     QIQLVQSGPELKKPGETVNIKCRASGYIFTHYGMHWVRQAPGKSFKHWGWINTYTGSTY
35  *****:*:****:..**::*****:*****:*****:..:*****
  C_VH7_7-4.1  SADFNGRFVFLDTSVSTAYLQINALKAEDTAVYYCARSGGYDPMQYWGQGTFTVTVSS
  D_VH1_1-03   SADFNGRVTITLDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGYDPMQYWGQGTFTVTVSS
40  ratón Vh     SADFNGRFVFLDTSASTAYLHINDLKHEDTATYFCARSGGYDPMQYWGQGTFTVTVSS
              *****:..:..:***:*****:..: *::****:*:*****:*****:*****
  
```

Ejemplo 6: Caracterización de CAR CD123 humanizado

45 Se generaron construcciones de CAR anti-CD123 humanizadas basándose en el scFv 32716 de ratón anti-CD123 humano y se insertaron en una cadena principal pELPS-41BB-CD3z. Cada uno de los plásmidos se amplificó mediante transformación bacteriana utilizando técnicas estándar en células TOP10, seguido de un Maxiprep utilizando el kit Qiagen Plasmid Maxi. Se produjo sobrenadante lentivírico en células 293T utilizando técnicas estándar. Se transdujeron células T de donantes normales con sobrenadante lentiviral y se expandieron utilizando perlas anti-CD3/CD28 e interleuquina-2. En la siguiente Tabla 3 se muestra la expansión múltiple de las células T transducidas con cada una de las construcciones, o con un CAR anti-CD123 humano de ratón de control (C1172):
 Tabla 3. Producción de virus y expansión de células T

ID del constructo	Expansión Múltiplo
NA (control no transducido)	9
C1172	21
CAR8 (UL69-05CC)	24
CAR7 (WW88-24LB)	23
CAR3 (AW84-20CB)	25
CAR4 (QW85-24WB)	24
CAR5 (GW86-29RB)	18
CAR2 (KW82-25HB)	23
CAR6 (MW89-29GB)	20
CAR1 (UW81-20MB)	20

5 Para detectar la eficiencia de transducción y el nivel de expresión de cada una de las construcciones, las células T transducidas en el día 10 de expansión se tiñeron con (i) reactivo F(ab) anti-ratón de cabra Alexa fluor 647, (ii) F(ab) anti-humano de cabra FITC o (iii) CD123-Fc humano primario seguido de Fc PE anti-humano. Se encontró que el F(ab) anti-ratón y el CD123-Fc tenían una buena correlación, lo que sugiere que en los casos en los que CAR se expresa en la superficie, sería capaz de unirse a la diana (Figura 32). El reactivo F(ab) anti-humano no detectó CAR (datos no mostrados).
Tabla 4.

ID del constructo	Expresión por Anti-Fab	Expresión por CD123-Fc
NA (control no transducido)	1,74	0,54
C1172	43	32,3
CAR8 (UL69-05CC)	63,5	73,2
CAR7 (WW88-24LB)	50,2	51
CAR3 (AW84-20CB)	75,1	69,9
CAR4 (QW85-24WB)	83,8	77,8
CAR5 (GW86-29RB)	52,2	46,1
CAR2 (KW82-25HB)	82,6	78,6
CAR6 (MW89-29GB)	1,35	0,64
CAR1 (UW81-20MB)	75,5	74,5

10 MOLM14, una línea de células diana de expresión de CD123 que se había transducido previamente con luciferasa de luciérnaga, se sembró en una placa de 96 pocillos a razón de 5×10^4 células por pocillo. Las células T transducidas con las diferentes construcciones de CAR humanizadas, o con CARCD123 anti-humano de ratón control se sembraron en placas a 2:1, 1:1 y 0,5:1 después de la corrección para el porcentaje de expresión de CAR. Específicamente, todas las células T se diluyeron hasta un nivel de expresión de CAR del 40% y, por lo tanto, las relaciones E:T efectivas fueron $2 \times 0,4 = 0,8:1$; $1 \times 0,4 = 0,4:1$; $0,5 \times 0,4 = 0,2:1$. Los pocillos de control contenían células MOLM14 solas (E:T = 0:1), o células MOLM14 exterminadas con ETOH (exterminio MAX). Después de 16 horas, se añadió luciferina a cada uno de los pocillos y se obtuvieron imágenes de la placa durante 10 segundos. Los resultados se muestran en la Figura 33. Los resultados de un ensayo de exterminio se presentan en la Figura 34.

20 Todas las construcciones, con la excepción de MW89-29GB, mostraron una expresión en superficie y una eficacia antitumoral similares. Estas construcciones también muestran una eficacia similar a la construcción CD123 anti-humana de ratón C1172.

25 Ejemplo 7: Terapia con células T CAR anti-CD123 de ARN para AML y ALL

30 Las construcciones CAR anti-CD123 C1172 (scFv 32716) y C1176 (scFv 26292) se clonaron en un vector pDA. Las secuencias de nucleótidos y aminoácidos se proporcionan en la Tabla 2 como SEQ ID NO: 94-97. Las construcciones se sometieron a transcripción in vitro y el ARNm resultante se sometió a electroporación en células T de donantes normales. Los linfocitos T humanos se dejaron reposar durante la noche, seguido de una co-incubación durante 2

horas con dianas (véase la Figura 35), en presencia de anti-CD107a, anti-CD49d y anti-CD28, y monensina, en un ensayo de desgranulación estándar. Los controles fueron CART19 transducido lentiviralmente, CART123 transducido lentiviralmente (construcción C1172 basado en el scFv 32716) y perlas anti-CD3/CD28. Téngase en cuenta que C1176 reconoce CD123 de cynomolgus, así como CD123 humano, mientras que C1172 reconoce solo CD123 humano.

Estos resultados demuestran que las células T pueden electroporarse con éxito con CAR anti-CD123 funcional.

Células T de donantes normales se expandieron in vitro utilizando perlas anti-CD3/CD28 y rhlL2. Células MOLM14 que expresan luciferasa se inyectaron iv (1×10^6 células) en ratones NSG subletalmente irradiados el D0. Se tomaron imágenes de los ratones el D6 para confirmar el injerto del tumor (BLI). El D7 se electroporaron (EP) células T con CARCD123 de ARN o plásmido CAR19 de ARN, o se sometieron para simular una EP ("sin tratamiento"), reposaron durante 4 horas a 37 grados, y luego los ratones se trataron con 15×10^6 células T modificadas. El D13, los ratones se sometieron a BLI. El D14, las células T descongeladas se electroporaron como se ha descrito arriba. El D14, los ratones fueron tratados con ciclofosfamida 60 mg/kg i.v. para el agotamiento de linfocitos, seguido de una inyección iv de 5×10^6 células T. El D20, los ratones se sometieron a BLI. El D21, las células T descongeladas se electroporaron como se ha descrito arriba. El D21, los ratones fueron tratados con ciclofosfamida 60 mg/kg i.v. para el agotamiento de linfocitos, seguido de una inyección i.v. de 5×10^6 células T. La última formación de imágenes se realizó el D34 para documentar la respuesta anti-tumor. La bioluminiscencia en D21 y D28 después de la inyección de células T se muestra en la Figura 36. Los datos que demuestran el efecto antitumoral se muestran en la Figura 37.

Estos resultados demuestran que las células CAR electroporadas con ARN pueden utilizarse para inducir una respuesta antitumoral in vivo en animales inmunodeficientes.

Ejemplo 8: Comparación in vivo de la Eficacia Antitumoral de células CART anti-CD 123

Células T se transdujeron con las siguientes construcciones: C1172 (anti-CD123 32716 de cadena ligera a pesada CD8H 4-1BB CD3z; C1176 (anti-CD123 26292 de cadena ligera a pesada CD8H 4-1BB CD3z); a 10 ratones NSG se les inyectó MOLM14 Luc 1×10^6 el D0. Se obtuvieron imágenes de animales para la carga tumoral el D7, seguido de la inyección de 1×10^6 células T como sigue: Nº de células T n = 2; CART123_C1172 n=4 (50% de células TCAR+); CART123_C1176 n=4 (50% células TCAR+). La carga tumoral se siguió en serie mediante formación de imágenes bioluminiscentes (Figura 38). La carga tumoral, tal como se muestra por bioluminiscencia 7 días después de la inyección de células T, fue menor en ambos grupos de células T que en el grupo no tratado, y CART123_C1172 parecía ser algo más potente que CART123_C1176.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> NOVARTIS AG TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA
 <120> FIJACIÓN EFICAZ COMO OBJETIVO DE LA LEUCEMIA HUMANA PRIMARIA UTILIZANDO
 5 CÉLULAS T MODIFICADAS CON RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO ANTI-CD123
 <130> N2067-7001W0
 <140>
 <141>
 <150> 61/865,856
 10 <151> 2013-08-14
 <150> 61/767,058
 <151> 2013-02-20
 <160> 136
 <170> PatentIn versión 3.5
 15 <210> 1
 <211> 494
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 1

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

ES 2 814 962 T3

<210> 2
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 2
 10 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
 20 25 30
 15 Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 20 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
 25 65 70 75 80
 30
 35
 40
 45
 50
 55

ES 2 814 962 T3

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

10 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly
100 105 110

15 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ile
115 120 125

20 Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val
130 135 140

25 Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met
145 150 155 160

30 Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Ser Phe Lys Trp Met Gly Trp
165 170 175

35 Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly
180 185 190

40 Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu His
195 200 205

45 Ile Asn Asp Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg
210 215 220

50 Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
225 230 235 240

55 Thr Val Ser Ser

<210> 3
<211> 21
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente
<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 3
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

50 His Ala Ala Arg Pro
20

ES 2 814 962 T3

<210> 4
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 4

10

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

15

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

<210> 5
 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
 35 40 45

20

<211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 5

30

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

35

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
 20

40

<210> 6
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 6

45

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

50

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

55

<210> 7
 <211> 112
 <212> PRT

ES 2 814 962 T3

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 7

5

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

10

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

15

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

<210> 8

<211> 1482

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

20

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

25

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

30

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

35

<400> 8

40

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60

45

cccgatccg acatcgtgct gacacagagc cctgcttccc tggccgtgct cctgggacag 120

agagccacaa tcagctgcag ggccagcgag agcgtggaca actacggcaa caccttcatg 180

50

cactggtatc agcagaagcc cggccagccc cccaagctgc tgatctacag agccagcaac 240

55

ctggaaagcg gcatccccgc cagatcttcc ggcagcggca gcagaaccga cttcaccctg 300

accatcaacc cagtggaagc cgacgacgtg gccacctact actgccagca gagcaacgag 360

gacccccca catttgagc cggcaccaag ctggaactga agggcggagg cggatctg... ---
 ggcggaggat cttctggggg aggctctcag attcagctgg tgcagagcgg cccagagctg 480
 aagaaacccg gcgagacagt gaagatctcc tgcaaggcct cgggctacat cttaccaat 540
 tacggcatga actgggtcaa gcaggcccct ggcaagagct tcaagtggat gggctggatc 600
 aacacctaca ccggcgagag cacctacagc gccgacttca agggcagatt cgccttcagc 660
 ctggaacca gcgccagcac cgcctacctg cacatcaacg acctgaagaa cgaggacacc 720
 5 gccacctatt tctgcgccag aagcggcggc tacgaccca tggattattg gggccagggc 780
 accagcgtga ccgtgtcctc tgctagctcc ggaaccacga cgccagcgcg gcgaccacca 840
 acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagagggc gtgccggcca 900
 10 gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcc cctgtgatat ctacatctgg 960
 gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
 aactgggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacac catttatgag accagtacaa 1080
 15 actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
 gaactgagag tgaagttcag caggagcgcg gacgccccg cgtacaagca gggccagaac 1200
 cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
 20 cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320
 tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
 gagcgcgga ggggcaagg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
 25 gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gc 1482

<211> 732
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 9

gacatcgtgc tgacacagag ccctgcttcc ctggccgtgt ccctgggaca gagagccaca 60
 atcagctgca gggccagcga gagcgtggac aactacggca acaccttcat gcactggtat 120
 40 cagcagaagc ccggccagcc cccaagctg ctgatctaca gagccagcaa cctgaaagc 180
 ggcattcccc ccagatttcc cggcagcggc agcagaaccg acttcaccct gaccatcaac 240
 cccgtggaag ccgacgacgt ggccacctac tactgccagc agagcaacga ggaccccccc 300
 45 acatttgag ccggcaccaa gctggaactg aagggcggag gcggatctgg cggcggagga 360
 tcttctgggg gaggctctca gattcagctg gtgcagagcg gccagagct gaagaaacc 420
 50 ggcgagacag tgaagatctc ctgcaaggcc tccggctaca tcttaccaa ttacggcatg 480
 aactgggtca agcagggccc tggcaagagc ttcaagtgga tgggctggat caacacctac 540
 accggcgaga gcacctacag cgccgacttc aagggcagat tcgccttcag cctgaaacc 600
 55 agcgcagca ccgcctacct gcacatcaac gacctgaaga acgaggacac cgccacctat 660
 ttctgcgcca gaagcggcgg ctacgacccc atggattatt gggccaggg caccagcgtg 720
 accgtgtcct ct 732

ES 2 814 962 T3

<210> 10
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
 <400> 10

10 atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60
 ccc 63

15 <210> 11
 <211> 135
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 20 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 11

25 accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgcca ccatgcgctc gcagcccctg 60
 tccctgcgcc cagagggctg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
 gacttcgcct gtgat 135

30 <210> 12
 <211> 72
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 35 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
 <400> 12

40 atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggctc ttctcctgctc actggttatc 60
 accctttact gc 72

45 <210> 13
 <211> 126
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 50 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 13

55 aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
 actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
 gaactg 126

ES 2 814 962 T3

5 <210> 14
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 14

10 agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttgacaa gagacgtggc 120
 cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
 gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
 cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
 tacgacgcc ttcacatgca ggcctgccc cctcgc 336

20 <210> 15
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 15

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

<210> 16
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 16

10 Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5

<210> 17
 <211> 17
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 20 <400> 17

 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys
 1 5 10 15

25 Gly

<210> 18
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 35 <400> 18

 Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
 1 5

40 <210> 19
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 19

50

55

ES 2 814 962 T3

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

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

5 Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

10 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60

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

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

20 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 20
 <211> 15
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 20

30 Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His
 1 5 10 15

35 <210> 21
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 21

45 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

<210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 22

55 Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr
 1 5

ES 2 814 962 T3

5 <210> 23
 <211> 48
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 23

10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55

Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu Pro
 1 5 10 15
 Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser Thr
 20 25 30
 Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser Pro
 35 40 45
 <210> 24
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 24
 Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
 1 5
 <210> 25
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 25
 Asn Thr Tyr Thr Gly Glu
 1 5
 <210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 26

ES 2 814 962 T3

Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
 1 5

5 <210> 27
 <211> 123
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 10 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 27

15 **aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc cgcgcgcccc** 60
gggccacccc gcaagcatta ccagccctat gcccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

20 <210> 28
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 25 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 28

30 **Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe**
 1 5 10

35 <210> 29
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 29

40 **Arg Ala Ser**
 1

45 <210> 30
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 50 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 30

Ser Asn Glu Asp Pro Pro
 1 5

55 <210> 31
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 814 962 T3

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 31

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

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

10 Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

15 Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

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

25 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 32

<211> 111

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

35 <400> 32

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

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

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

45 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

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

55 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

ES 2 814 962 T3

5 <210> 33
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 33

10 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

15 1 5 10 15

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

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

25 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
 50 55 60

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

30 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 85 90 95

35 Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110

35 Thr Val Ser Ser
 115

40 <210> 34
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 45 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 34

50

55

ES 2 814 962 T3

1 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
 10 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 15 Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln
 20 Ile Asn Ala Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 25 Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 30 Thr Val Ser Ser
 35 <210> 35
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 40 Gly Gly Gly Gly Ser
 45 1 5
 <210> 36
 <211> 249
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 55 <400> 36

ES 2 814 962 T3

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
 20 25 30
 5 Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 10 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 15 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
 100 105 110
 20 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 25 Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys
 130 135 140
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe
 145 150 155 160
 30 Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 165 170 175
 35 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser
 180 185 190
 Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser
 195 200 205
 40 Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Ala Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val
 210 215 220
 45 Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 245
 50 <210> 37
 <211> 747
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 37

ES 2 814 962 T3

	gacatcgtgc tgaccaatc cccggacagc ctcgcagtct cactcggaga acgcgccact	60
	atcaattgta gggcgtcggg gtccgtggac aattacggaa acaccttcat gcactggtac	120
5	caacaaaaac ctggtcagcc acctaagctg ctgatctacc gcgcctcгаа tctggaatca	180
	ggagtgccgg acagattctc ggggtccggc tcccggacgg atttcacttt gaccatctcg	240
	tcacttcaag ctgaggacgt cgcgggtgtac tactgccagc agagcaacga agatccaccc	300
10	acgttcggac aaggcaccaa gctggagatt aaaggaggcg gaggctccgg tggaggagga	360
	tcgggaggag gcggctccgg cggaggtgga tcgcagattc agctggtgca gtcgggttca	420
	gaattgaaga aaccaggagc ctcgggtgaag gtcagctgca aggcacagc gtacatcttc	480
15	actaactacg gcatgaactg ggtgcgccag gctccgggac aggggctgga gtggatggga	540
	tggatcaaca cttacaccgg ggagtcaact tactcggctg actttaaggg ccggtttgtg	600
	ttctccctcg aactagcgt gagcaccgcc tatcttcaaa tcaacgccct caaggcggaa	660
20	gataccgccg tctactactg cgcaagatcc ggtgggtacg atccgatgga ttattgggga	720
	cagggaacca ctgtcaccgt gagcagc	747
	<210> 38	
25	<211> 843	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<221> fuente	
30	<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"	
	<400> 38	
	atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg	60
	cccgacatcg tgctgaccca atcccggac agcctcgcag tctcactcgg agaacgcgcc	120
35	actatcaatt gtagggcgtc ggagtccgtg gacaattacg gaaacacott catgcactgg	180
	taccaacaaa aacctggtca gccacctaag ctgctgatct accgcgcctc gaatctggaa	240
	tcaggagtgc cggacagatt ctccgggtcc ggctcccgga cggatttcac tttgaccatc	300
40	tcgtcacttc aagctgagga cgtcgcggtg tactactgcc agcagagcaa cgaagatcca	360
	cccacgttcg gacaaggcac caagctggag attaaaggag gcggaggctc cggaggagga	420
	ggatcgggag gaggcggctc cggcggaggt ggatcgcaga ttcagctggt gcagtcgggt	480
45	tcagaattga agaaaccagg agcctcggtg aaggtcagct gcaaggcatc aggttacatc	540
	ttcactaact acggcatgaa ctgggtgctc caggctccgg gacaggggct ggagtggatg	600
	ggatggatca acacttacac cggggagtca acttactcgg ctgactttaa gggccggttt	660
50	gtgttctccc tcgacactag cgtgagcacc gcctatcttc aaatcaacgc cctcaaggcg	720
	gaagataccg ccgttacta ctgcgcaaga tccgggggt acgatccgat ggattattgg	780
	ggacagggaa ccaactgtcac cgtgagcagc ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac	840
55	cac	843

ES 2 814 962 T3

<210> 39
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 39

5

10

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

15

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

20

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

25

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

30

Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80

35

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
 85 90 95

40

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

45

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125

50

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140

55

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

Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
 165 170 175

Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
 180 185 190

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly
 195 200 205

Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu
 210 215 220

Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Ala Leu Lys Ala
 225 230 235 240

ES 2 814 962 T3

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro
 245 250 255

5 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser
 260 265 270

His His His His His His His His
 275 280

10

<210> 40

<211> 1479

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 40

20

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

cccgacatcg tgctgaccca atccccggac agcctcgcag tctcactcgg agaacgcgcc 120

25

actatcaatt gtagggcgctc ggagtcctgt gacaattacg gaaacacctt catgcactgg 180

taccaacaaa aacctgtgca gccacctaag ctgctgatct accgcgcctc gaactctgaa 240

tcaggagtgc cggacagatt ctccgggtcc ggctcccga cggatttcac tttgaccatc 300

30

tcgtcacttc aagctgagga cgtcgcgggt tactactgcc agcagagcaa cgaagatcca 360

cccacgttcg gacaaggcac caagctggag attaaaggag gcggaggctc cggtgaggga 420

ggatcgggag gaggcggctc cggcggagggt ggatcgcaga ttcagctggt gcagtccgggt 480

35

tcagaattga agaaaccagg agcctcgggt aaggtcagct gcaaggcatc aggttacatc 540

ttcactaact acggcatgaa ctgggtgcgc caggctccgg gacaggggct ggagtggatg 600

ggatggatca aacttacac cggggagtca acttactcgg ctgactttaa gggccggttt 660

gtgttctccc tcgacactag cgtgagcacc gcctatcttc aatcaacgc cctcaaggcg 720

40

gaagataccg ccgtctacta ctgcgcaaga tccggtgggt acgatccgat ggattattgg 780

ggacagggaa cactgtcac cgtgagcagc accactacc cagcaccgag gccaccacc 840

ccggctccta ccatcgcctc ccagcctctg tccttgcgtc cggaggcatg tagaccgca 900

45

gctggtgggg ccgtgcatac cgggggtctt gacttcgcct gcgatatcta catttgggcc 960

cctctggctg gtacttgagg ggtcctgctg ctttactcog tgatcactct ttactgtaag 1020

cgcggtcggga agaagctgct gtacatcttt aagcaacct tcatgaggcc tgtgcagact 1080

50

actcaagagg aggacggctg ttcattgccg tcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140

ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200

55

ES 2 814 962 T3

ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
 ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaaga ggcctgtac 1320
 aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
 5 cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
 acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg cgcctcgg 1479

 10 <210> 41
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 41

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

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

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

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

 35 Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80

 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
 85 90 95

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

 45 Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125

 Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140

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

 Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
 55

ES 2 814 962 T3

					165					170					175				
5	Ser	Gly	Tyr	Ile	Phe	Thr	Asn	Tyr	Gly	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala			
				180					185				190						
10	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Thr	Gly			
			195					200					205						
15	Glu	Ser	Thr	Tyr	Ser	Ala	Asp	Phe	Lys	Gly	Arg	Phe	Val	Phe	Ser	Leu			
	210						215					220							
20	Asp	Thr	Ser	Val	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Ile	Asn	Ala	Leu	Lys	Ala			
	225					230					235					240			
25	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Gly	Gly	Tyr	Asp	Pro			
					245					250					255				
30	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Thr			
				260						265					270				
35	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln			
			275					280					285						
40	Pro	Leu	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala			
		290					295					300							
45	Val	His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala			
	305					310					315					320			
50	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr			
					325					330					335				
55	Leu	Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln			
				340					345					350					
60	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser			
			355					360					365						
65	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys				
		370					375				380								
70	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Lys	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln			
	385					390					395				400				
75	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu			
					405					410					415				

ES 2 814 962 T3

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 420 425 430
 5 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 435 440 445
 Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 450 455 460
 10 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 465 470 475 480
 15 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490
 <210> 42
 <211> 249
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 42
 25
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 30 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 40 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
 85 90 95
 45 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
 100 105 110
 50 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 55

ES 2 814 962 T3

Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 130 135 140

5 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe
 145 150 155 160

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
 165 170 175

10 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser
 180 185 190

15 Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu Asp Thr Ser Ala Ser
 195 200 205

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 210 215 220

20 Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly
 225 230 235 240

25 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 245

<210> 43
 <211> 747
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 43

gatattgtcc tactcaatc gccggactca ctggcgggtgt ccctcggaga gagggcgacg 60

atcaattgcc gggcttccga atccgtcgat aactacggaa acacctttat gcaactgtac 120

caacagaagc caggacagcc accaaagctg ttgatctacc gcgcttcaaa ccttgagtcg 180

ggtgtgccgg accgcttcag cggcagcggg tccagaaccg actttaccct caccatcagc 240

tcgctgcagg ccgaagatgt cgccgtctat tactgccaac agagcaacga agatccgcct 300

actttcggac aggggactaa actggaaatc aagggcggag gaggctcggg tggaggagga 360

tcgggaggag gcggtccgg tgggtggcga tcgcaaatcc agctggtgca gtccggcgca 420

gaagtgaaga agccgggagc gtccgtgaaa gtgagctgca aggcctcagg gtacatcttc 480

accaattacg gcatgaattg ggtgcggcag gcacccggac agcgcctgga gtggatgggc 540

tggatcaaca cttacaccgg ggaagcacg tactcggccg acttcaaagg acgggtgacc 600

attaccctgg atacctcggc ctcaaccgct tacatggagc tctcatcact tagatccgag 660

gacactgccg tctactactg tgcaaggagc ggaggctacg accctatgga ctattgggga 720

caaggcaeta ctgtgactgt gtcgtcc 747

ES 2 814 962 T3

<210> 44
 <211> 843
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

10

<400> 44

15	atggcctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg	60
	cccgatattg tcctcactca atcgccggac tcaactggcgg tgtccctcgg agagagggcg	120
20	acgatcaatt gccgggcttc cgaatccgctc gataactacg gaaacacctt tatgcaactgg	180
	taccaacaga agccaggaca gccaccaaag ctggtgatct accgcgcttc aaaccttgag	240
25	tcgggtgtgc cggaccgctt cagcggcagc ggttccagaa ccgactttac cctcaccatc	300
	agctcgctgc aggccgaaga tgtcgccgctc tattactgcc aacagagcaa cgaagatccg	360
30	cctacttttcg gacaggggac taaactggaa atcaagggcg gaggaggctc ggggtggagga	420
	ggatcgggag gaggcgggctc cgggtggtggc ggatcgcaaa tccagctggt gcagtccggc	480
35	gcagaagtga agaagccggg agcgtccgctg aaagtgagct gcaaggcctc aggttacatc	540
	ttaccaatt acggcatgaa ttgggtgctg caggcaccg gacagcgcct ggagtggatg	600
40	ggctggatca aacttacac cggggaaagc acgtactcgg ccgacttcaa aggacgggtg	660
	accattacc tggatacctc ggcctcaacc gcttacatgg agctctcatc acttagatcc	720
45	gaggacactg ccgtctacta ctgtgcaagg agcggaggct acgaccctat ggactattgg	780
	ggacaaggca ctactgtgac tgtgtcgtcc ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac	840
50	cac	843

<210> 45
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 45

45

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

50

55

ES 2 814 962 T3

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu
 20 25 30
 5 Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu
 35 40 45
 His His His His His His His His His Met His Trp Tyr Gln Gln Lys
 275 280 60
 10 Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80
 15 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
 85 90 95
 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr
 100 105 110
 20 Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125
 Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140
 25 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly
 145 150 155 160
 30 Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
 165 170 175
 Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
 180 185 190
 35 Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly
 195 200 205
 40 Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu
 210 215 220
 Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
 225 230 235 240
 45 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro
 245 250 255
 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser
 260 265 270
 50
 <210> 46
 <211> 1479
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente

ES 2 814 962 T3

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
<400> 46

5 atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 cccgatattg tcctcaactca atcgccggac tcaactgggg tgtccctcgg agagagggcg 120
 acgatcaatt gccgggcttc cgaatccgtc gataactacg gaaacacctt tatgcaactg 180
 10 taccaacaga agccaggaca gccaccaaag ctgttgatct accgcgcttc aaaccttgag 240
 tcgggtgtgc cggaccgctt cagcggcagc ggttcagaa ccgactttac cctcaccatc 300
 agctcgctgc aggccgaaga tgtcgccgtc tattactgcc aacagagcaa cgaagatccg 360
 15 cctactttcg gacaggggac taaactggaa atcaagggcg gaggaggctc ggggtggagga 420
 ggatcgggag gaggcgggtc cggtggtggc ggatcgaaa tccagctggg gcagtcgggc 480
 gcagaagtga agaagccggg agcgtccgtg aaagtgagct gcaaggcctc agggtagatc 540
 20 ttcaccaatt acggcatgaa ttgggtgcgg caggcaccgg gacagcgctt ggagtggatg 600
 ggctggatca acaacttacac cggggaaagc acgtactcgg ccgacttcaa aggacgggtg 660
 accattaccg tggatacctc ggcctcaacc gcttacatgg agctctcatc acttagatcc 720
 25 gaggacactg ccgtctacta ctgtgcaagg agcggaggct acgaccctat ggactattgg 780
 ggacaaggca ctactgtgac tgtgtcgtcc accactaccg cagcaccgag gccaccacc 840
 ccggtccta ccatgcctc ccagcctctg tccctcgctc cggaggcatg tagaccgca 900
 30 gctggtgggg ccgtgcatac ccgggtctt gacttcgctt gcgatatcta catttgggcc 960
 cctctggctg gtacttgctg ggtcctgctg ctttactcgg tgatcactct ttactgtaag 1020
 cgcggtcggg agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080
 35 actcaagagg aggacggctg tcatgcccgg tcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140
 ctgcccgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200
 ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
 40 ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaga gggcctgtac 1320
 aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
 cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
 acctatgacg ctcttccatc gcaggccctg ccgctcgg 1479

45

50

55

ES 2 814 962 T3

<210> 47
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 47

5

10

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

15

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

20

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

25

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

Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
 85 90 95

30

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

35

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140

40

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

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
 165 170 175

45

Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
 180 185 190

50

55

ES 2 814 962 T3

Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly
 195 200 205
 5
 Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu
 210 215 220
 Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
 225 230 235 240
 10
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro
 245 250 255
 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr
 260 265 270
 15
 Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
 275 280 285
 20
 Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
 290 295 300
 Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
 305 310 315 320
 25
 Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
 325 330 335
 30
 Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 340 345 350
 Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
 355 360 365
 35
 Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
 370 375 380
 Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
 385 390 395 400
 40
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 405 410 415
 45
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 420 425 430
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 435 440 445
 50
 55

ES 2 814 962 T3

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

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

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

10

<210> 48
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 48

15

20

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

25

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

30

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60

35

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

40

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

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
 100 105 110

45

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys
 130 135 140

50

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe
 145 150 155 160

55

ES 2 814 962 T3

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 165 170 175

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser
 180 185 190

5 Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser
 195 200 205

10 Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Ala Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val
 210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly
 225 230 235 240

15 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 245

<210> 49
 <211> 747
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 25 <400> 49

gaaattgtgc tcacgcaatc acccgccact ctgtcgcttt ccccgggaga gcgggccacc 60
 ctctcctgcc gcgcttcgga atcggctcgac aattacggaa atacttttat gcaactgttac 120
 caacagaagc cagggcaggc gccaaaggctg ctgatctaca gagcctcgaa cctcgaaagc 180
 ggcattccctg cgcggttcag cggtagcgga agccgcaccg atttcaccct gaccatctca 240
 tcactggagc cggaggatgt ggcagtgtac tattgtcagc agtcgaacga ggacccgccg 300
 actttcgggc aggaaccaa gctggaaatc aagggtggag gagggagcgg cggaggagga 360
 tcgggaggag gaggcagcgg aggcggagga tcgcaaatcc aacttgtcca gtcgggctcc 420
 gaactcaaaa agcctggcgc gtccgtgaag gtcagctgca aagcatcagg atacatcttc 480
 actaactacg gtatgaattg ggtcagacag gctccgggtc agggctctgga gtggatggga 540
 tggattaaca cctacactgg ggaatcgact tactccgcgg acttcaaagg gcggttcgtg 600
 ttttactgg acaccagcgt gtccaccgct tacttgcaaa tcaacgccct caaggccgag 660
 gagaccgcog tgtactactg cgcacgctca ggcggatagc atccaatgga ctactgggga 720
 cagggcacta cggtgactgt gtocctcc 747

30 <210> 50
 <211> 843
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 50

ES 2 814 962 T3

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 cccgaaattg tgctcaccga atcacccgcc actctgtcgc tttccccggg agagcgggcc 120
 accctctcct gccgcgcttc ggaatcggtc gacaattacg gaaatacttt tatgcaactg 180
 taccaacaga agccagggca ggcgccaagg ctgctgatct acagagcctc gaacctcgaa 240
 agcggcatcc ctgcgcgggtt cagcggtagc ggaagccgca ccgatttcac cctgaccatc 300
 tcatcaactg agccggagga tgtggcagtg tactattgtc agcagtcgaa cgaggaccgc 360
 ccgactttcg ggcagggaac caagctggaa atcaagggtg gaggagggag cggcggagga 420
 ggatcgggag gaggagcag cggaggcgga ggatcgcaaa tccaacttgt ccagtcgggc 480
 tccgaactca aaaagcctgg cgcgtccgtg aaggtcagct gcaaagcatc aggatacatc 540
 ttcactaact acggtatgaa ttgggtcaga caggctccgg gtcagggtct ggagtggatg 600
 ggatggatta acacctacac tggggaatcg acttactccg cggacttcaa agggcggttc 660
 gtgttttcac tggacaccag cgtgtccacc gcttacttgc aaatcaacgc cctcaaggcc 720
 gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgcacgc tcaggcggat acgatccaat ggactactgg 780
 ggacagggca ctacggtgac tgtgtcctcc ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac 840

cac 843

<210> 51

<211> 281

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 51

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

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

10 Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu

ES 2 814 962 T3

35 40 45

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

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
85 90 95

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

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

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

Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
165 170 175

Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
180 185 190

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly
195 200 205

Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu
210 215 220

Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Ala Leu Lys Ala
225 230 235 240

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro
245 250 255

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser
260 265 270

His His His His His His His His
275 280

<210> 52

<211> 1479

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 52

ES 2 814 962 T3

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 cccgaaattg tgctcacgca atcacccgcc actctgtcgc tttccccggg agagcgggcc 120
 accctctcct gccgcgcttc ggaatcggtc gacaattacg gaaatacttt tatgcaactgg 180
 taccaacaga agccagggca ggcgccaagg ctgctgatct acagagcctc gaacctcgaa 240
 agcggcatcc ctgcgcgggtt cagcggtagc ggaagccgca ccgatttcac cctgaccatc 300
 tcatcaactgg agccggagga tgtggcagtg tactattgtc agcagtcgaa cgaggaccgcg 360
 ccgactttcg ggcagggaaac caagctggaa atcaagggtg gaggagggag cggcggagga 420
 ggatcgggag gaggaggcag cggaggcgga ggatcgcaaa tccaacttgt ccagtcgggc 480
 tccgaactca aaaagcctgg cgcgtccgtg aaggtcagct gcaaagcatc aggatacatc 540
 ttcactaact acggtatgaa ttgggtcaga caggctccgg gtcagggtct ggagtggatg 600
 ggatgatta acacctacac tggggaatcg acttactccg cggacttcaa agggcggttc 660
 gtgttttcac tggacaccag cgtgtccacc gcttacttgc aatcaacgc cctcaaggcc 720
 gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgcacgc tcaggcggat acgatccaat ggactactgg 780
 ggacagggca ctacgggtgac tgtgtcctcc accactacc cagcaccgag gccaccacc 840
 ccggctccta ccatgcctc ccagcctctg tccctgcgtc cggaggcatg tagaccgcga 900
 gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt gacttcgctt gcgatatcta catttgggcc 960
 cctctggctg gtacttgctg ggtcctgctg ctttactcgc tgatcactct ttactgtaag 1020
 cgcggtcggg agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080
 actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg tcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140
 ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200
 ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
 ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaaaga gggcctgtac 1320
 aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
 cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
 acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg ccgctcgg 1479
 <210> 53
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 53

5

ES 2 814 962 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 Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
 20 25 30

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu
 35 40 45

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

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
 85 90 95

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

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140

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

Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
 165 170 175

Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
 180 185 190

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly
 195 200 205

Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu

ES 2 814 962 T3

210 215 220

Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Ala Leu Lys Ala
 225 230 235 240

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro
 245 250 255

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr
 260 265 270

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

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
 290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
 305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
 325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 54
 <211> 249
 <212> PRT

ES 2 814 962 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

5

<400> 54

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

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

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

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

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
130 135 140

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe
145 150 155 160

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
165 170 175

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu Asp Thr Ser Ala Ser
195 200 205

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 55

<211> 747

<212> ADN

10

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 55
 5 gagatcgtct tgacgcaatc gccagccacc ctgtccctga gcccaggcga ggcgcgccacc 60
 ctcagctgtc gggcgagcga aagcgtggac aattacggaa acacctttat gcaactgttac 120
 caacagaaac cggggcaggc tccgcgcctc ctcatctacc gcgcatccaa tctggaatca 180
 ggaatccccg cgaggttctc cggtagcggg tgcgcgactg actttactct gaccatctcg 240
 tcccttgaac cggaggatgt ggctgtgtat tactgccagc agtcaaacga ggaccctcca 300
 actttcgggc agggaaccaa gctcgaatc aaggcgggtg gcggaagcgg aggaggagga 360
 tcaggcggag gcggtcaggc cggtaggagt tcacaaatc aactgggtgca gtcgggagcg 420
 gagggtcaaga agccgggagc ctcagtgaat gtgagctgca aggcttcggg ttacattttc 480
 actaattacg gcatgaactg ggtgaggcag gcccttggcc aacggttgga atggatggga 540
 tggatcaaca cctacaccgg ggagtcgact tactcccgcg acttcaaggg gagagtcacg 600
 atcaccctgg atacgtccgc aagcactgcc tacatggaac tgtcctccct gcgctcgaa 660
 gataccgcag tctactactg cgccagatcg ggcggatatg acccgatgga ctactgggga 720
 cagggaaacta ctgtcaccgt gtcctcg 747
 <210> 56
 <211> 843
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 56
 atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 cccgagatcg tcttgacgca atcgccagcc accctgtccc tgagcccagg cgagcgcgcc 120
 accctcagct gtcggggcag cgaaagcgtg gacaattacg gaaacacctt tatgcactgg 180
 taccaacaga aaccggggca ggctccgcgc ctctcatct accggcgcatc caatctggaa 240
 tcaggaatcc ccgcgagggtt ctccggtagc ggatcgcgga ctgactttac tctgaccatc 300
 tcgtcccttg aaccggagga tgtggctgtg tattactgcc agcagtcaaa cgaggaccct 360
 ccaactttcg ggcagggaa caagctcga atcaagggcg gtggcggaag cggaggagga 420
 ggatcaggcg gaggcggctc aggcgggtgga ggttcacaaa ttcaactggt gcagtcggga 480
 gcggaggatca agaagccggg agcctcagtg aaagtgagct gcaaggcttc gggttacatt 540
 ttcactaatt acggcatgaa ctgggtgagg caggccctg gccaacggtt ggaatggatg 600
 ggatggatca acacctacac cggggagtcg acttactccg cggacttcaa ggggagagtc 660
 acgatcaccg tggatacgtc cgcaagcact gcctacatgg aactgtcctc cctgcgctcg 720
 gaagataccg cagtctacta ctgcgccaga tcgggcggat atgaccgat ggactactgg 780
 ggacagggaa ctactgtcac cgtgtcctcg ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac 840
 15 cac 843

ES 2 814 962 T3

5

<210> 57
<211> 281
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente
<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
<400> 57
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

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

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu
35 40 45

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

10

ES 2 814 962 T3

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
85 90 95

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

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

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

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
165 170 175

Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
180 185 190

Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly
195 200 205

Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu
210 215 220

Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
225 230 235 240

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro
245 250 255

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Ser
260 265 270

His His His His His His His His His
275 280

<210> 58

<211> 1479

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 58

ES 2 814 962 T3

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 cccgagatcg tcttgacgca atcgccagcc accctgtccc tgagcccagg cgagcgcgcc 120
 accctcagct gtcgggagag cgaaagcgtg gacaattacg gaaacacctt tatgactgg 180
 taccaacaga aaccggggca ggctccgctc ctctcatct accgcgcctc caatctggaa 240
 tcaggaatcc ccgagaggtt ctccggtagc ggatcgcgga ctgactttac tctgaccatc 300
 tcgtcccttg aaccggagga tgtggctgtg tattactgcc agcagtcaaa cgaggaccct 360
 ccaactttcg ggaggggaa caagctcga atcaagggcg gtggcggaag cggaggagga 420
 ggatcaggcg gagcggctc aggcgggtga ggttcacaaa ttcaactggt gcagtcggga 480
 gcgagggtca agaagccggg agcctcagtg aaagtgagct gcaaggcttc gggttacatt 540
 ttcactaatt acggcatgaa ctgggtgagc caggcccctg gccaacggtt ggaatgatg 600
 ggatggatca acacctacac cggggagtcg acttactccg cggacttcaa ggggagagtc 660
 acgatcacc tggatacgtc cgcaagcact gcctacatgg aactgtcctc cctgcgctcg 720
 gaagataccg cagtctacta ctgcccaga tcgggcggat atgaccgat ggactactgg 780
 ggacagggaa ctactgtcac cgtgtcctcg accactacc cagcaccgag gccaccacc 840
 ccggctccta ccatgcctc ccagcctctg tcctgcgctc cggagggatg tagaccgcc 900
 gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt gacttcgctc gcgatatcta catttgggcc 960
 cctctggctg gtacttgctg ggtcctgctg ctttactcgt tgatcactct ttactgtaag 1020
 cgcggtcggg agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080
 actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140
 ctgcccgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200
 ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
 ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaaaga gggcctgtac 1320
 aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
 cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
 acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg ccgctcgg 1479
 <210> 59
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 59

5

ES 2 814 962 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 Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu
 20 25 30

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu
 35 40 45

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

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu
 65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
 85 90 95

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

Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140

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

Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala
 165 170 175

Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
 180 185 190

Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly
 195 200 205

Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Leu
 210 215 220

Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser
 225 230 235 240

ES 2 814 962 T3

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro
 245 250 255

Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Thr Thr
 260 265 270

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

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
 290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
 305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
 325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 60

<211> 249

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 60

ES 2 814 962 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

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

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

Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His
 165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg
 180 185 190

Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 195 200 205

Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp
 210 215 220

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe
 225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 245

<210> 61

<211> 747

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 61

5

10

ES 2 814 962 T3

cagatccagt tgggccagtc aggctccgaa ctgaaaaagc cgggtgcatc cgtcaaggtg 60
 tcgtgcaaaag cctccgggta cttttcacc aactacggca tgaactgggt ccgccaggcc 120
 cctgggcagg gactcgaatg gatgggggtg atcaacactt acaccggaga gtcgacttac 180
 tcggccgatt tcaagggacg gttcgtgttt tccctggaca cttcagtctc gaccgcatat 240
 ctccaaatca acgcgcttaa ggccgaagat actgctgtct actactgctc cagatcagga 300
 ggttacgac caatggacta ctggggacag ggcaccactg tgacgggtgc gtcgggagga 360
 ggaggatcgg gcggaggcgg gtccggcggg ggaggggagc gaggaggcgg aagcgacatc 420
 gtgctgacct agtcgccaga tagcctggcg gtgtccttgg gtgagagggc taccatcaat 480
 tgtcgcgcgt cagagtccgt ggacaattac gggaatacct tcatgactg gtaccaacaa 540
 aagcccggac aaccgccgaa gctgctgatc tacagagcaa gcaacctcga atcaggagtg 600
 ccggaccgct tttagcgggtc aggaagccgg actgacttca ccctgactat ctcctcgtc 660
 caggccgagg acgtggcgt gtattactgc cagcagagca acgaagatcc tccaacgttc 720
 ggccaaggaa ccaaactgga gattaag 747

<210> 62
 <211> 843
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 62

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 cccagatcc agttggtcca gtcaggctcc gaactgaaaa agccgggtgc atccgtcaag 120
 gtgtcgtgca aagcctccgg ttacattttc accaactacg gcatgaactg ggtccgccag 180
 gccctgggc agggactcga atggatgggg tggatcaaca cttacaccgg agagtcgact 240
 tactcgcccg atttcaaggg acggttcgtg ttttccctgg aacttcagt ctcgaccgca 300
 tatctccaaa tcaacgcgct taagggcggaa gatactgctg tctactactg cgccagatca 360
 ggaggttacg atccaatgga ctactgggga caggcaacca ctgtgacggt gtcgtcggga 420
 ggaggaggat cgggcggagg cgggtccggc ggtggaggga gcggaggagg cggaagcgac 480
 atcgtgctga cccagtcgcc agatagcctg gcggtgtcct tgggtgagag ggctaccatc 540
 aattgtcggc cgtcagagtc cgtggacaat tacgggaata cttcatgca ctggtaccaa 600
 caaaagcccg gacaaccgcc gaagctgctg atctacagag caagcaacct cgaatcagga 660
 gtgccggacc gcttagcgg gtcaggaagc cggactgact tcaccctgac tatctcctcg 720
 ctccaggccg aggacgtggc cgtgtattac tgccagcaga gcaacgaaga tcctccaacg 780
 ttcggccaag gaaccaaact ggagattaag ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac 840

cac 843
 <210> 63
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 814 962 T3

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 63

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 Ser Glu Leu
20 25 30

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

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

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

Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser

5

ES 2 814 962 T3

85

90

95

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
 115 120 125

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
 145 150 155 160

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

Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly
 180 185 190

Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys
 195 200 205

Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg
 210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu
 245 250 255

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

His His His His His His His His His
 275 280

<210> 64

<211> 1479

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 64

10 atggcctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca agccgctcgg 60

ES 2 814 962 T3

ccccagatcc agttggtcca gtcaggctcc gaactgaaaa agccgggtgc atccgtcaag 120
 gtgtcgtgca aagcctccgg ttacattttc accaactacg gcatgaactg ggtccgccag 180
 gccctgggc agggactcga atggatgggg tggatcaaca cttacaccgg agagtgcact 240
 tactcgcccg atttcaaggg acggttcgtg ttttcctgg aacttcagt ctgaccgca 300
 tatctccaaa tcaacgcgct taaggcgaa gatactgctg tctactactg cgccagatca 360
 ggaggttacg atccaatgga ctactgggga cagggcacca ctgtgacggt gtcgtcggga 420
 ggaggaggat cgggcggagg cgggtccggc ggtggaggga gcggaggagg cggaagcgac 480
 atcgtgctga cccagtcgcc agatagcctg gcggtgtcct tgggtgagag ggctaccatc 540
 aattgtcgcg cgtcagagtc cgtggacaat tacgggaata cttcatgca ctggtaccaa 600
 caaaagcccg gacaaccgcc gaagctgctg atctacagag caagcaacct cgaatcagga 660
 gtgccggacc gcttagcgg gtcaggaagc cggactgact tcaccctgac tatctcctcg 720
 ctccaggccg aggacgtggc cgtgtattac tgccagcaga gcaacgaaga tcctccaacg 780
 ttcggccaag gaaccaaact ggagattaag accactacc cagcaccgag gccaccacc 840
 ccggtccta ccatgcctc ccagcctctg tcctgcgtc cggaggcatg tagaccgca 900
 gctggtgggg ccgtgcatac ccgggtcctt gacttcgctt gcgatatcta catttggcc 960
 cctctggctg gtacttgccg ggtcctgctg ctttactcg tgatcactct ttactgtaag 1020
 cgcggtcggg agaagctgct gtacatctt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080
 actcaagagg aggacggctg ttcagtcggg tcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140
 ctgctcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200
 ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
 ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atcccgaaga gggcctgtac 1320
 aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
 cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
 acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg ccgctcgg 1479

<210> 65

<211> 493

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 65

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

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

260 265 270

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

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 66

<211> 249

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 66

ES 2 814 962 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

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

Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser
 145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His
 165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg
 180 185 190

Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 195 200 205

Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp
 210 215 220

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe
 225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 245

<210> 67

<211> 747

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 67

5

10

ES 2 814 962 T3

cagatccaac tgggtcaatc aggatcggag ctgaagaagc ctggggcttc agtgaaagtc 60
 agctgcaaag cctccgggta catcttcacc aactacggca tgaactgggt gcgccaggcc 120
 cctggacagg gactcgaatg gatgggggtg atcaacacct ataccgggga atccacgtac 180
 tcagcagatt tcaagggacg cttcgtcttt tcgctggata cctccgtgtc cactcgtac 240
 ctccaaatca atgccctcaa agccgaagat actgcggtct actactgcgc acggagcggga 300
 ggctacgacc cgatggacta ctggggacag ggaaccacgg tgaccgtgtc cagcggagga 360
 ggcggatcgg gaggcgggtg ttcaggcggg ggaggcagcg gcggagggtg aagcgaatc 420
 gtcttgactc agagcccagc gactttgtcc ctgtcgcccg gagagcgggc aactctgtca 480
 tgccgcgctt cggaatcggg ggacaactat ggaaacacct ttatgactg gtaccaacag 540
 aagccgggac aagccccgag acttctgatc taccgggctt cgaatctcga aagcggcatc 600
 ccggctagat tctcggggtc gggatcaagg accgacttca ctcttactat ttcctcactg 660
 gagccagaag atgtggcggg gtactactgt cagcagtcca atgaggacc gcccaacttc 720
 gggcagggca ccaagctgga gattaag 747

5

<210> 68
 <211> 843
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 68

10

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 ccccagatcc aactggtgca atcaggatcg gagctgaaga agcctggggc ttcagtgaaa 120
 gtcagctgca aagcctccgg ttacatcttc accaactacg gcatgaactg ggtgcgccag 180
 gccctggac agggactcga atggatgggg tggatcaaca cctataccgg ggaatccacg 240
 tactcagcag atttcaaggg acgcttcgtc ttttcgctgg atacctccgt gtccactgcg 300
 tacctccaaa tcaatgccct caaagccgaa gatactgctg tctactactg cgcacggagc 360
 ggaggctacg acccgatgga ctactgggga caggaacca cggtgaccgt gtccagcggga 420
 ggaggcggat cgggagcggg tggttcagcg ggtggaggca gcggcggagg tggaaagcga 480
 atcgtcttga ctcagagccc agcgactttg tccctgtcgc ccggagagcg ggcaactctg 540
 tcatgccgcg cttcggaatc ggtggacaac tatgaaaca ctttatgca ctggtaccaa 600
 cagaagccgg gacaagcccc gagacttctg atctaccggg cctcgaatct cgaagcggc 660
 atcccggcta gattctcggg gtccggatca aggaccgact tcaactttac tatttcetca 720
 ctggagccag aagatgtggc ggtgtactac tgtcagcagt ccaatgagga ccgccaact 780
 ttcgggcagg gcaccaagct ggagattaag ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac 840

15

cac 843
 <210> 69
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 814 962 T3

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 69

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 Ser Glu Leu
 20 25 30

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

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
 50 55 60

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

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

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

5

ES 2 814 962 T3

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
 115 120 125

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
 145 150 155 160

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

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly
 180 185 190

Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
 195 200 205

Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala Arg
 210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Glu Pro Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu
 245 250 255

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

His His His His His His His His
 275 280

<210> 70

<211> 1479

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 70

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60

ccccagatcc aactggtgca atcaggatcg gagctgaaga agcctggggc ttcagtgaaa 120

gtcagctgca aagcctccgg ttacatcttc accaactacg gcatgaactg ggtgcccag 180

gcccctggac agggactcga atggatgggg tggatcaaca cctataccgg ggaatccacg 240

5

10

ES 2 814 962 T3

tactcagcag atttcaaggg acgcttcgtc ttttcgctgg atacctccgt gtccactgcg 300
 tacctccaaa tcaatgccct caaagccgaa gatactgctg tctactactg cgcacggagc 360
 ggaggctacg acccgatgga ctactgggga caggaacca cggtgaccgt gtccagcggg 420
 ggaggcggat cgggaggcgg tggttcaggc ggtggaggca gcggcggagg tggaaagcga 480
 atcgtcttga ctcagagccc agcgactttg tcctgtctgc ccggagagcg ggcaactctg 540
 tcatgccggc cttcgggaatc ggtggacaac tatggaaaca cctttatgca ctggtaccaa 600
 cagaagccgg gacaagcccc gagacttctg atctaccggg cctcgaatct cgaaagcggc 660
 atccccgcta gattctcggg gtcgggatca aggaccgact tcaactcttac tatttcctca 720
 ctggagccag aagatgtggc ggtgtactac tgtcagcagt ccaatgagga cccgccaaact 780
 ttcgggcagg gcaccaagct ggagattaag accactacc cagcaccgag gccaccacc 840
 ccggctccta ccatgcctc ccagcctctg tcctcgtctc cggaggcatg tagaccgcga 900
 gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt gacttcgctt gcgatatacta catttgggcc 960
 cctctggctg gtacttgctg ggtcctgctg ctttactctg tgatcactct ttactgtaag 1020
 cgcggtcggg agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080
 actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140
 ctgcgcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200
 ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
 ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaaga gggcctgtac 1320
 aacgagctcc aaaaggataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
 cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
 acctatgacg ctcttccat gcaggccctg ccgctcggg 1479

<210> 71

<211> 493

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 71

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 Ser Glu Leu
 20 25 30

10

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 72

<211> 249

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 72

5

ES 2 814 962 T3

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

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

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

Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His
 165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg
 180 185 190

Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 195 200 205

Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp
 210 215 220

Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe
 225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 245

<210> 73

<211> 747

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 73

ES 2 814 962 T3

cagatccagc tggcgcagtc gggagctgaa gtgaaaaagc cgggagcatc ggtgaaggtg 60
 tcatgcaaag ccagcgggta catcttcact aactacggta tgaactgggt gagacaagcg 120
 cctggccaga gattggaatg gatgggatgg atcaatacct acaccgggga atcaacttac 180
 agcgcggact tcaagggacg cgtgaccatc acgctggaca cctccgcgtc cactgcctac 240
 atggagctct cgtcattgcg gagcgaggac accgccgtct actactgcmc acggtcagga 300
 gggtagatc cgatggacta ctggggacag ggcactaccg tcaccgtgag ctccgggtga 360
 ggcggcagcg gcggtggcgg atcaggtgga ggaggatcag gaggaggagg gtccgatatc 420
 gtgcttactc agtcacccga ttogctggca gtctccctcg gagaacgcmc caccatcaat 480
 tgtcgcgctt ccgaatccgt cgacaactac ggcaaacact ttatgactg gtaccaacag 540
 aagcctggac aaccgcaaaa actgctgatc taccgcgcta gcaacctcga atcgggcgctg 600
 ccagataggt tctcgggctc ggggagccgg acggatttta ctctgactat ttcgtccctc 660
 caagcagagg acgtcgccgt gtattactgc cagcaatcga atgaggacc gcccaacttc 720
 ggacagggga ccaagctgga gattaag 747

<210> 74
 <211> 843
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 74

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 ccccagatcc agctggtgca gtogggagct gaagtgaaaa agccgggagc atcggtgaa 120
 gtgtcatgca aagccagcgg ttacatcttc actaactacg gtatgaactg ggtgagacaa 180
 gcgcctggcc agagattgga atggatggga tggatcaata cctacaccgg ggaatcaact 240
 tacagcggcg acttcaaggg acgcgtgacc atcacgctgg acacctccgc gtccactgcc 300
 10 tacatggagc tctcgtcatt gcggagcag gacaccgccc tctactactg cgcacggtca 360
 ggagggtacg atccgatgga ctactgggga cagggcacta ccgtcaccgt gagctccggt 420
 ggaggcggca gcggcgggtg cggatcaggt ggaggaggat caggaggagg agggctccgat 480
 atcgtgctta ctcagtcacc cgattcgctg gcagtctccc tcggagaacg cgccaccatc 540
 aattgtcggc cgtccgaatc cgtcgacaac tacggcaaca cctttatgca ctggtaccaa 600
 cagaagcctg gacaaccgcc aaaactgctg atctaccgcg ctagcaacct cgaatcgggc 660
 gtgccagata ggttctcggg ctoggggagc cggacggatt ttactctgac tatttcgtcc 720
 ctccaagcag aggacgtcgc cgtgtattac tgccagcaat cgaatgagga cccgccaact 780
 ttcggacagg ggaccaagct ggagattaag ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac 840
 cac 843

<210> 75
 <211> 281
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 814 962 T3

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 75

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 Ala Glu Val
20 25 30

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

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

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

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

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

5

ES 2 814 962 T3

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
 145 150 155 160

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

Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly
 180 185 190

Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys
 195 200 205

Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg
 210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu
 245 250 255

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

His His His His His His His His
 275 280

<210> 76
 <211> 1479
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 76
 atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 ccccagatcc agctggtgca gtcgggagct gaagtgaaaa agccgggagc atcgggtgaag 120
 gtgtcatgca aagccagcgg ttacatcttc actaactacg gtatgaactg ggtgagacaa 180
 ggcgctggcc agagattgga atggatggga tggatcaata cctacaccgg ggaatcaact 240
 tacagcgccg acttcaaggg acgcgtgacc atcacgctgg acacctccgc gtccactgcc 300
 tacatggagc tctcgtcatt gcggagcgag gacaccgccc tctactactg cgcacggtca 360
 ggagggtacg atccgatgga ctactgggga cagggcacta ccgtcaccgt gagctccggt 420

5

10

ES 2 814 962 T3

ggagggcgca gcggcgggtg cggatcaggt ggaggaggat caggaggagg aggggccgat 480
atcgtgctta ctcagtcacc cgattcgctg gcagtctccc tcggagaacg cgccaccatc 540
aattgtcgcg cgtccgaatc cgtcgacaac tacggcaaca cctttatgca ctggtaccaa 600
cagaagcctg gacaaccgcc aaaactgtg atctaccgcy ctagcaacct cgaatcgggc 660
gtgccagata ggttctcggg ctoggggagc cggacggatt ttactctgac tatttcgtcc 720
ctccaagcag aggacgtcgc cgtgtattac tgccagcaat cgaatgagga cccgccaaact 780
ttcggacagg ggaccaagct ggagattaag accactacc cagcaccgag gccaccacc 840
cggctccta ccatgcctc ccagcctctg tccctcgtc cggaggcatg tagaccgcga 900
gctggtgggg ccgtgcatac ccggggtctt gacttcgcct gcgatatcta catttgggcc 960
cctctggctg gtacttgccg ggtcctgctg ctttactcg tgatcactct ttactgtaag 1020
cgcggtcggg agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080
actcaagagg aggacggctg ttcatgccgg tcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140
ctgctcgtga aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200
ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atccccaaga gggcctgtac 1320
aacgagctcc aaaagataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg ccgcctcgg 1479

<210> 77

<211> 493

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 77

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 Ala Glu Val
20 25 30

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

10 Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 78
<211> 249
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente
<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
<400> 78

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

5

10

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr

ES 2 814 962 T3

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

<210> 79

<211> 747

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 79

ES 2 814 962 T3

cagatccagc tgggtcaatc gggagctgaa gtgaagaagc ccggagcttc agtcaaagtc 60
 agctgcaagg cgtcgggcta tatcttcacc aactacggga tgaactgggt gcggcaggcc 120
 cctggacaaa gactggaatg gatgggatgg atcaacactt atactggcga gagcacgtac 180
 tcagccgact ttaagggacg ggtgactatc accctcgata cctccgcctc cactgctac 240
 atggaactct cgtccttgcg ctccgaggac actgccgtgt actactgcgc caggtcgggt 300
 ggctacgac cgatggatta ctgggggtcaa ggaaccaccg tcaactgtgtc gtccggcgga 360
 ggcgggagcg gaggtggtgg ttccgggagga ggagggtcag gcggaggagg cagcgaaatc 420
 gtgctgacct aaagcccggc aactctgtca ctcagcccag gggagagggc aaccctgtca 480
 tgtcgggcta gcgaatccgt ggacaattac ggaaacacgt ttatgcaactg gtaccaacag 540
 aaaccaggac aggcgcctag acttctcatc taccgcgoga gcaatttga atccggcatc 600
 ccagcccgt tctccgggtc ggggtcacgc accgatttca ctctgacatc ttcctccctg 660
 gaaccgagg acgtggcagt ctactactgc cagcagtcga atgaggacc gccgacctc 720
 ggacagggca ccaagctgga gattaag 747

5

<210> 80
 <211> 843
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 80

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg 60
 cccagatcc agctggtgca atcgggagct gaagtgaaga agccgggagc ttcagtcaaa 120
 gtcagctgca aggcgtcggg ctatatcttc accaactacg ggatgaactg ggtgcggcag 180
 gccctggac aaagactgga atggatggga tggatcaaca cttatactgg cgagagcacg 240
 tactcagccg actttaaggg acgggtgact atcacctcgc atacctccgc ctccactcgc 300
 tacatggaac tctcgtcctt gcgctccgag gacactgccg tgtactactg cgccaggtcg 360
 ggtggtacg atccgatgga ttactggggt caaggaacca ccgtcactgt gtcgtccggc 420
 ggaggcggga gcggagggtg tggttcggga ggaggagggt caggcggagg aggcagcgaa 480
 atcgtgctga cccaaagccc ggcaactctg tcaactcagcc caggggagag ggcaaccctg 540
 tcatgtcggg ctagcgaatc cgtggacaat tacggaaaca cgtttatgca ctggtaccaa 600
 cagaaaccag gacaggcgcc tagacttctc atctaccgag cgagcaattt ggaatccggc 660
 atcccagccc gcttctccgg gtccgggtca cgcaccgatt tcaactctgac catttcctcc 720
 ctggaaccgg aggacgtggc agtctactac tgccagcagt cgaatgagga ccgcccagcc 780
 ttcggacagg gcaccaagct ggagattaag ggctcgcacc accatcacca tcatcatcac 840

10

cac 843
 <210> 81
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

15

ES 2 814 962 T3

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 81

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 Ala Glu Val
20 25 30

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

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

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

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

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

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
115 120 125

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160

ES 2 814 962 T3

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

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly
 180 185 190

Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
 195 200 205

Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala Arg
 210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Glu Pro Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu
 245 250 255

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

His His His His His His His His His
 275 280

<210> 82

<211> 1479

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 82

atggccctcc ctgtcaccgc cctgctgctt ccgctggctc ttctgctcca cgccgctcgg	60
ccccagatcc agctggtgca atcgggagct gaagtgaaga agcccggagc ttcagtcaaa	120
gtcagctgca aggcgtcggg ctatatcttc accaactacg ggatgaactg ggtgcggcag	180
gcccctggac aaagactgga atggatggga tggatcaaca cttatactgg cgagagcacg	240
tactcagccg actttaaggg acgggtgact atcacctcg atacctccgc ctccactgcg	300
tacatggaac tctcgtcctt gcgctccgag gacactgccg tgtactactg cgccaggtcg	360
ggtggctacg atccgatgga ttactggggt caaggaacca ccgtcactgt gtcgtccggc	420
ggaggcggga gcggaggtg tggttcggga ggaggagggt caggcggagg aggcagcгаа	480
atcgtgctga cccaaagccc ggcaactctg tcaactcagcc caggggagag ggcaaccctg	540
tcatgtcggg ctagcgaatc cgtggacaat tacggaaca cgtttatgca ctggtaccaa	600

5

10

ES 2 814 962 T3

cagaaaccag gacaggcgcc tagacttctc atctaccgcg cgagcaattt ggaatccggc 660
atcccagccc gcttctccgg gtcgggggtca cgcaccgatt tcaactctgac catttcctcc 720
ctggaacccg aggacgtggc agtctactac tgccagcagt cgaatgagga cccgccgacc 780
ttcggacagg gcaccaagct ggagattaag accactaccc cagcaccgag gccaccacc 840
ccggctccta ccatgcctc ccagcctctg tccttgcgtc cggaggcatg tagaccgcga 900
gctggtgggg ccgtgcatac ccgggggtctt gacttcgctt gcgatatacta catttgggcc 960
cctctggctg gtacttgctg ggtcctgctg ctttcaactg tgatcaactt ttactgtaag 1020
cgcggtcggg agaagctgct gtacatcttt aagcaaccct tcatgaggcc tgtgcagact 1080
actcaagagg aggacggctg ttcattgccg ttcccagagg aggaggaagg cggctgcgaa 1140
ctgctcagtg aattcagccg cagcgcagat gctccagcct acaagcaggg gcagaaccag 1200
ctctacaacg aactcaatct tggtcggaga gaggagtacg acgtgctgga caagcggaga 1260
ggacgggacc cagaaatggg cgggaagccg cgcagaaaga atcccgaaga gggcctgtac 1320
aacgagctcc aaaagataa gatggcagaa gcctatagcg agattggtat gaaaggggaa 1380
cgcagaagag gcaaaggcca cgacggactg taccagggac tcagcaccgc caccaaggac 1440
acctatgacg ctcttcacat gcaggccctg ccgcctcgg 1479

<210> 83
<211> 493
<212> PRT
5 <213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente
<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
<400> 83

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 Ala Glu Val
20 25 30

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

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
50 55 60

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

10

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 84

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 84

Ser Tyr Trp Met Asn

10 1 5

<210> 85

<211> 17

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"

<400> 85

Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

20 <210> 86

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 86
 Gly Asn Trp Asp Asp Tyr
 1 5
 5 <210> 87
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 87
 Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala
 1 5 10
 15 <210> 88
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 88
 Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5
 25 <210> 89
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 89
 Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr
 1 5
 35 <210> 90
 <211> 400
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <220>
 45 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(400)
 <223> /nota="Esta secuencia puede abarcar entre 100 y 400 nucleótidos"
 <220>
 <221> variación
 <222> (101)..(400)
 <223> /reemplazar=" "
 <220>
 50 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(400)
 <223> /nota="Bases variantes dadas en la secuencia no tienen preferencia con respecto a las de las anotaciones para posiciones variantes"
 <220>
 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(400)

<223> /nota="Véase la memoria descriptiva tal como ha sido presentada para una descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas"

<400> 90

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 400

5

<210> 91

<211> 2019

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 91

ES 2 814 962 T3

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctaga 60
 cctggatccc aggtgcagct gcagcagcct ggcgctgaac tcgtgcggcc aggcgcttct 120
 gtgaagctga gctgtaaagc cagcggctac accttcacca gctactggat gaactgggtc 180
 aagcagcggc ccgaccaggg cctggagtgg atcggcagaa tcgacccta cgacagcgag 240
 acacactaca accagaagtt caaggacaag gccatcctga ccgtggacia gagcagcagc 300
 accgcctaca tgcagctgtc cagcctgacc agcgaggaca gcgcoctgta ctactgcgcc 360
 aggggcaact gggacgacta ttggggccag ggcaccacc tgacagtgtc tagcggaggc 420
 ggagatctg gcggcgagg aagttctgac ggaggctccg acgtgcagat cacccagagc 480
 cctagctacc tggccgcctc tctggcgag acaatcacca tcaactgccg ggccagcaag 540
 agcatctcca aggacctggc ctggtatcag gaaaagcccg gcaagaccaa caagctgctg 600
 atctacagcg gcagcaccct gcagagcggc atccccagca gattttccgg cagcggctcc 660
 ggcaccgact tcaccctgac catcagctcc ctggaacccg aggactttgc catgtactat 720
 tgccagcagc acaacaagta cccttacacc ttggcgagg gcaccaagct ggaaatcaag 780
 gccagctccg gagagagcaa gtacggccct ccctgcccc cttgccctgc ccccagattc 840
 ctggcgagg ccagcgtgtt cctgttcccc cccaagccca aggacaccct gatgatcagc 900
 cggacccccg aggtgacctg tgtggtggtg gacgtgtccc aggaggacc cgaggtccag 960
 ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cacaacgcca agaccaagcc cggggaggag 1020
 cagttcaata gcacctaccg ggtggtgtcc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg 1080
 aacggcaagg aatacaagt taaggtgtcc aacaagggcc tgcccagcag catcgagaaa 1140
 accatcagca aggccaaggg ccagcctcgg gagccccagg tgtacaccct gccccctagc 1200
 caagaggaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgcc tggatgaagg cttctacccc 1260
 agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagcccg agaacaacta caagaccacc 1320
 ccccctgtgc tggacagcga cggcagcttc ttcctgtaca gccggctgac cgtggacaag 1380
 agccggtggc aggagggcaa cgtctttagc tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac 1440
 cactacacc agaagagcct gagcctgtcc ctgggcaaga tggatatcta catctgggag 1500
 cccttgccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa 1560
 cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaacat ttatgagacc agtacaact 1620
 actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 1680
 ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gccccgcgt acaagcagg ccagaaccag 1740
 ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttga caagagcgt 1800
 ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1860
 aatgaactgc agaaagataa gatggcgagg gcctacagt agattgggat gaaagcgag 1920
 cgccggagg gcaagggca cgatggcctt taccagggc tcagtacagc caccaaggac 1980
 acctacgag cccttcacat gcagggcctg ccccctgc 2019
 <210> 92
 <211> 111
 <212> PRT

ES 2 814 962 T3

<213> Mus musculus

<400> 92

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

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

Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

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

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 93

<211> 118

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 93

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 Ile Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Ser Phe Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr Tyr Ser Ala Asp Phe
50 55 60

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 94

<211> 2003

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5

10

15

ES 2 814 962 T3

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 94

ggcagcggag agggcagagg aagtcttcta acatgcggtg acgtggagga gaatcccggc	60
cctagagcca ccatggccct gcctgtgaca gccctgctgc tgctctggc tctgctgctg	120
catgccgcta gacccggatc cgacatcgtg ctgacacaga gccctgcttc cctggccgtg	180
tccctgggac agagagccac aatcagctgc agggccagcg agagcgtgga caactacggc	240
aacaccttca tgactggta tcagcagaag cccggccagc cccccaagct gctgatctac	300
agagccagca acctggaaag cggcatcccc gccagatttt ccggcagcgg cagcagaacc	360
gacttcaccc tgaccatcaa ccccgtagaa gccgacgacg tggccaccta ctactgccag	420
cagagcaacg aggaccccc cacatttga gccggcacca agctggaact gaagggcggg	480
ggcggatctg gcggcggagg atcttctggg ggaggctctc agattcagct ggtgcagagc	540
ggcccagagc tgaagaaacc cggcgagaca gtgaagatct cctgcaaggc ctccggctac	600
atcttcacca attacggcat gaactgggtc aagcaggccc ctggcaagag cttcaagtgg	660
atgggctgga tcaacaccta caccggcgag agcacctaca gcgccgactt caagggcaga	720
ttgccttca gcctggaaac cagcgccagc accgcctacc tgacatcaa cgacctgaag	780
aacgaggaca ccgccaccta tttctgcgcc agaagcggcg gctacgacct catggattat	840
tggggccagg gcaccagcgt gaccgtgtcc tctgctagct ccggaaccac gacgccagcg	900

5

ES 2 814 962 T3

ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag 960
 gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 1020
 atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggggtcc ttctcctgtc actggttacc 1080
 accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatztatg 1140
 agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1200
 gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 1260
 cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatggt 1320
 ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaacctt 1380
 caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1440
 gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggctctcagt 1500
 acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctaagtc 1560
 gacagctcgc tttcttgctg tccaatttct attaaagggt cctttgttcc ctaagtccaa 1620
 ctactaaact gggggatatt atgaagggcc ttgagcatct ggattctgcc taataaaaaa 1680
 catttathtt cattgctgcg tcgagagctc gctttcttgc tgtccaattt ctattaaagg 1740
 ttcctttggt ccctaagtcc aactactaaa ctgggggata ttatgaaggg ccttgagcat 1800
 ctggattctg cctaataaaa aacatttatt ttcattgctg cctcgacgaa ttcaaaaaaa 1860
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1980
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 2003

<210> 95
 <211> 494
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 95

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

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

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

5

10

ES 2 814 962 T3

Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln
50 55 60

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

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

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly
115 120 125

Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu
145 150 155 160

Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
165 170 175

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys
180 185 190

Ser Phe Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr
195 200 205

Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser
210 215 220

Ala Ser Thr Ala Tyr Leu His Ile Asn Asp Leu Lys Asn Glu Asp Thr
225 230 235 240

Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Ser Gly Thr
260 265 270

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

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
290 295 300

ES 2 814 962 T3

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
305 310 315 320

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
325 330 335

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 96

<211> 2019

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 96

atggcctgctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctaga 60

10 cctggatccc aggtgcagct gcagcagcct ggcgctgaac tcgtgcggcc aggcgcttct 120

ES 2 814 962 T3

gtgaagctga gctgtaaagc cagcggctac accttcacca gctactggat gaactgggtc 180
aagcagcggc ccgaccaggg cctggagtgg atcggcagaa tgcacccta cgacagcgag 240
acacactaca accagaagtt caaggacaag gccatcctga ccgtggacaa gagcagcagc 300
accgcctaca tgcagctgtc cagcctgacc agcagagaca gcgccgtgta ctactgcgcc 360
aggggcaact gggacgacta ttggggccag ggcaccacc tgacagtgtc tagcggaggc 420
ggagatctg gcggcggag aagtcttggc ggaggctccg acgtgcagat caccagagc 480
cctagctacc tggccgcctc tcctggcgag acaatcacca tcaactgccg ggcagcaag 540
agcatctoca aggacctgac ctggtatcag gaaaagccc gcaagaccaa caagctgtg 600
atctacagcg gcagcaccct gcagagcggc atcccagca gattttccgg cagcggctcc 660
ggcaccgact tcaccctgac catcagctcc ctggaacccg aggactttgc catgtactat 720
tgccagcagc acaacaagta cccttacacc ttcggcggag gcaccaagct ggaaatcaag 780
gccagctccg gagagagcaa gtacggcct ccctgcccc cttgccctgc ccccgagttc 840
ctggcgggac ccagcgtgtt cctgttcccc cccaagcca aggacaccct gatgatcagc 900
cggacccccg aggtgacctg tgtggtggtg gacgtgtccc aggaggacc cgaggtccag 960
ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cacaacgcca agaccaagcc ccgggaggag 1020
cagttcaata gcacctaccg ggtggtgtcc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggtg 1080
aacggcaagg aatacaagtg taaggtgtcc aacaaggcc tgcccagcag catcgagaaa 1140
accatcagca aggccaagg ccagcctcgg gagccccagg tgtacaccct gcccctagc 1200
caagaggaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgcc tggggaaggg cttctacccc 1260
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggcagcccg agaacaacta caagaccacc 1320
ccccctgtgc tggacagcga cggcagcttc ttctgtaca gccggctgac cgtggacaag 1380
agccggtggc aggagggcaa cgtctttagc tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac 1440
cactacacc agaagagcct gagcctgtcc ctgggcaaga tggatatcta catctggcg 1500
cccttgccc ggacttgtg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa 1560
cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaacat ttatgagacc agtacaact 1620
actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 1680
ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gccccgcgt acaagcagg ccagaaccag 1740
ctctataac agctcaatct aggacgaaga gaggagtac atgttttga caagagacgt 1800
ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1860
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagt agattgggat gaaaggcgag 1920
cgccggagg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1980
acctacgag cccttcacat gcaggccctg ccccctgc 2019

5

<210> 97
<211> 673
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente

10

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

ES 2 814 962 T3

<400> 97

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

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

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

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

Asp Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu
65 70 75 80

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

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

Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp 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 Ser Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser
145 150 155 160

Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys
165 170 175

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys
180 185 190

Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Met Asp Ile
 485 490 495

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

Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys 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 Lys 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> 98
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 98

ES 2 814 962 T3

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> 99

<211> 336

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 99

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcgagggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac caggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgcc ttcacatgca ggcctgccc cctcgc 336

<210> 100

<211> 487

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

15 <400> 100

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

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

260 265 270

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

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

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

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

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

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

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

Ala Pro Ala Tyr Lys 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> 101

<211> 237

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 101

5

ES 2 814 962 T3

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln
 115 120 125
 Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys
 130 135 140
 Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys
 145 150 155 160
 Gln Arg Pro Asp Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr
 165 170 175
 Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Ile Leu
 180 185 190
 Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu
 195 200 205
 Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp
 210 215 220
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 225 230 235
 <210> 102
 <211> 1461
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 102

5

10

ES 2 814 962 T3

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctaga 60
cccggatccg acgtgcagat cacacagagc cctagctacc tggccgccag ccctggcgag 120
acaatcacca tcaactgccg ggcagcaag agcatcagca aggacctggc ctggatcag 180
gaaaagcccg gcaagaccaa caagctgctg atctacagcg gcagaccct gcagagcggc 240
atcccagca gattttccgg cagcggctcc ggcaccgact tcaccctgac aatcagcagc 300
ctggaaccog aggacttcgc catgtactac tgccagcagc acaacaagta ccctacacc 360
ttcggcggag gcaccaagct ggaaatcaag ggcggaggcg gatctggcgg cggaggaagt 420
tctggcggag gatctcaggt gcagctgcag cagccaggcg ctgaactcgt gggcctggc 480
gcttctgtga agctgagctg taaagccagc ggctacacct ttaccagcta ctggatgaac 540
tgggtcaagc agcggcccga ccagggcctg gagtggatcg gcagaatcga ccctacgac 600
agcgagacac actacaacca gaagttcaag gacaaggcca tcctgaccgt ggacaagagc 660
agctccaccg cctacatgca gctgtccagc ctgaccagcg aggacagcgc cgtgtactat 720
tgcgccaggg gcaactggga cgactactgg ggcagggca caaccctgac agtgtcctct 780
gctagctccg gaaccacgac gccagcggcg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 840
tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcggggg cgcagtgcac 900
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgccttggc cgggacttgt 960
ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1020
ctgtatatat tcaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1080
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 1140
aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag ggcagaacc agctctataa cgagctcaat 1200
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1260
gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1320
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcggcggag gggcaagggg 1380
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgccttcac 1440
atgcaggccc tgccccctcg c 1461

5

<210> 103

<211> 711

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

10

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 103

ES 2 814 962 T3

gacgtgcaga tcacacagag ccctagctac ctggccgcca gccctggcga gacaatcacc 60
atcaactgcc gggccagcaa gagcatcagc aaggacctgg cctgggatca ggaaaagccc 120
ggcaagacca acaagctgct gatctacagc ggcagcacc tgacagagcg catccccagc 180
agattttccg gcagcggctc cggcaccgac ttcaccctga caatcagcag cctggaaccc 240
gaggacttgg ccatgtacta ctgccagcag cacaacaagt acccctacac cttcggcgga 300
ggcaccaagc tggaatcaa gggcggaggc ggatctggcg gcggaggaag ttctggcgga 360
ggatctcagg tgcagctgca gcagccaggc gctgaactcg tgcggcctgg cgcttctgtg 420
aagctgagct gtaaagccag cggctacacc tttaccagct actggatgaa ctgggtcaag 480
cagcggcccg accagggcct ggagtggatc ggcagaatcg acccctacga cagcgagaca 540
cactacaacc agaagttcaa ggacaaggcc atcctgaccg tggacaagag cagctccacc 600
gcctacatgc agctgtccag cctgaccagc gaggacagcg ccgtgtacta ttgcgccagg 660
ggcaactggg acgactactg gggccagggc acaaccctga cagtgtcctc t 711

<210> 104
<211> 230
<212> PRT

5

<213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente
<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
<400> 104

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

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

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

10

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

ES 2 814 962 T3

50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

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

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

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

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

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

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

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

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

Leu Ser Leu Gly Lys Met
225 230

<210> 105

<211> 690

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 105

gagagcaagt acggcctcc ctgccccct tgccctgcc ccgagttcct gggcggaccc 60

agcgtgttcc tgttcccc caagcccaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgag 120

10 gtgacctgtg tgggtggtgga cgtgtcccag gaggaccccg aggtccagtt caactggtac 180

ES 2 814 962 T3

	gtggacggcg tggaggtgca caacgccaag accaagcccc gggaggagca gttcaatagc	240
	acctaccggg tgggtgccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa	300
	tacaagtgta aggtgtccaa caagggcctg cccagcagca tcgagaaaac catcagcaag	360
	gccaagggcc agcctcggga gcccaggtg tacaccctgc cccctagcca agaggagatg	420
	accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggt tctaccccag cgacatcgcc	480
	gtggagtggg agagcaacgg ccagcccggag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg	540
	gacagcgacg gcagcttctt cctgtacagc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag	600
	gagggcaacg tctttagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctaccccag	660
	aagagcctga gcctgtccct gggcaagatg	690
	<210> 106	
	<211> 2684	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<221> fuente	
	<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"	
	<400> 106	
	cgtgaggctc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc gccacagtc cccgagaagt	60
	tggggggagg ggtcgccaat tgaaccgtg cctagagaag gtggcgcggg gtaaactggg	120
	aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccagggg tgggggagaa ccgtatataa	180
	gtgcagtagt cgccgtgaac gttctttttc gcaacggggt tgcgccaga acacagtaa	240
	gtgccgtgtg tggttcccgc gggcctggcc tctttacggg ttatggccct tgcgtgcctt	300
	gaattacttc cacctggctg cagtacgtga ttcttgatcc cgagcttcgg gttggaagtg	360
	ggtgggagag ttcgaggcct tgcgcttaag gagccccttc gcctcgtgct tgagttgagg	420
	cctggcctgg gcgctggggc cgccgcgtgc gaatctggtg gcaccttcgc gcctgtctcg	480
	ctgctttcga taagtctcta gccatttaaa atttttgatg acctgctgcg acgctttttt	540
	tctggcaaga tagtcttgta aatgcgggcc aagatctgca cactggtatt tcggtttttg	600
	gggccgcggg cggcgacggg gcccgctgct cccagcgcac atgttcggcg agggcgggcc	660
	tgcgagcgcg gccaccgaga atcggacggg ggtagtctca agctggccgg cctgctctgg	720
	tgcctggcct cgcgcccggg tgtatcgccc cgccctgggc ggcaaggctg gcccggtcgg	780
	caccagttgc gtgagcggaa agatggccgc ttcccggccc tgctgcaggg agctcaaaat	840
	ggaggacgcg gcgctcggga gagcggggcg gtgagtcacc cacacaaagg aaaagggcct	900
10	ttccgtcctc agccgtcgct tcatgtgact ccaactgagta ccgggcgccc tcaggcacc	960

ES 2 814 962 T3

```

tcgattagtt ctcgtgcttt tggagtacgt cgtctttagg ttggggggag gggttttatg      1020
cgatggagtt tccccacact gagtgggtgg agactgaagt taggccagct tggcacttga      1080
tgtaattctc cttggaattt gccctttttg agtttggatc ttggttcatt ctcaagcctc      1140
agacagtggg tcaaagtttt tttcttccat ttcaggtgtc gtgagctagc tctagagcca      1200
ccatggccct gcctgtgaca gccctgtctg tgcctctggc tctgctgctg catgccgcta      1260
gaccgcgatc cgacatcgtg ctgacacaga gccctgcttc cctggccgtg tccctgggac      1320
agagagccac aatcagctgc agggccagcg agagcgtgga caactacggc aacaccttca      1380
tgactgggta tcagcagaag cccggccagc cccccaagct gctgatctac agagccagca      1440
acctggaag cggcatcccc gccagatttt ccggcagcgg cagcagaacc gacttcaccc      1500
tgaccatcaa ccccgaggaa gccgacgacg tggccaccta ctactgccag cagagcaacg      1560
aggaccccc cacatttggg gccggcacca agctggaact gaagggcgga ggcggatctg      1620
gcggcggagg atcttctggg ggaggctctc agattcagct ggtgcagagc ggcccagagc      1680
tgaagaaacc cggcgagaca gtgaagatct cctgcaaggc ctccggctac atcttcacca      1740
attacggcat gaactgggtc aagcaggccc ctggcaagag cttcaagtgg atgggctgga      1800
tcaacaccta caccggcgag agcacctaca gcgccgactt caagggcaga ttcgccttca      1860
gcctggaac cagcgcagc accgcctacc tgcacatcaa cgacctgaag aacgaggaca      1920
ccgccaccta tttctgcgcc agaagcggcg gctacgacc catggattat tggggccagg      1980
gcaccagcgt gaccgtgtcc tctgctagct ccggaaccac gacgccagcg ccgcgaccac      2040
caacaccggc gccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgccagag gcgtgccggc      2100
cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgctgtgat atctacatct      2160
gggcgccctt ggccgggact tgtgggttcc ttctcctgtc actggttatc acccttact      2220
gcaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaca accatztatg agaccagtac      2280
aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat      2340
gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcttacaag cagggccaga      2400
accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga      2460
gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc      2520
tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag      2580
gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggtctcagt acagccacca      2640
aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc tcgc      2684
<210> 107
<211> 494
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente
<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
<400> 107

```

5

ES 2 814 962 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 Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
 20 25 30

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

Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln
 50 55 60

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

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

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly
 115 120 125

Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140

Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu
 145 150 155 160

Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
 165 170 175

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys
 180 185 190

Ser Phe Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr
 195 200 205

Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser
 210 215 220

ES 2 814 962 T3

Ala Ser Thr Ala Tyr Leu His Ile Asn Asp Leu Lys Asn Glu Asp Thr
 225 230 235 240

Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
 245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Ser Gly Thr
 260 265 270

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

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 290 295 300

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
 305 310 315 320

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
 325 330 335

Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 108
 <211> 1482
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente

ES 2 814 962 T3

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 108

atggccctgc	ctgtgacagc	cctgctgctg	cctctggtc	tgctgctgca	tgccgctaga	60
cccggatccg	acatcgtgct	gacacagagc	cctgcttccc	tggccgtgtc	cctgggacag	120
agagccacaa	tcagctgcag	ggccagcgag	agcgtggaca	actacggcaa	caccttcatg	180
cactggtatc	agcagaagcc	cggccagccc	cccaagctgc	tgatctacag	agccagcaac	240
ctggaagcg	gcatccccgc	cagattttcc	ggcagcggca	gcagaaccga	cttcaccctg	300
accatcaacc	ccgtggaagc	cgacgacgtg	gccacctact	actgccagca	gagcaacgag	360
gaccccccca	catttgagc	cggcaccaag	ctggaactga	agggcggagg	cggatctggc	420
ggcggaggat	cttctggggg	aggctctcag	attcagctgg	tgacagcgg	cccagagctg	480
aagaaacccg	gcgagacagt	gaagatctcc	tgcaaggcct	ccggctacat	cttcaccaat	540
tacggcatga	actgggtcaa	gcaggcccct	ggcaagagct	tcaagtggat	gggctggatc	600
aacacctaca	ccggcgagag	cacctacagc	gccgacttca	agggcagatt	cgcttccagc	660
ctggaacca	gcgccagcac	cgctacctg	catcaacg	acctgaagaa	cgaggacacc	720
gccacctatt	tctgcgccag	aagcggcggc	tacgaccca	tggattattg	gggccagggc	780
accagcgtga	ccgtgtcctc	tgctagctcc	ggaaccacga	cgccagcggc	gcgaccacca	840
acaccggcgc	ccaccatcgc	gtgcgagccc	ctgtccctgc	gcccagaggc	gtgccggcca	900
gcggcggggg	gcgagtgca	cacgaggggg	ctggacttcg	cctgtgatat	ctacatctgg	960
gcgcccttgg	ccgggacttg	tggggtcctt	ctcctgtcac	tggttatcac	cctttactgc	1020
aaacggggca	gaaagaaact	cctgtatata	ttcaaacac	catttatgag	accagtacaa	1080
actactcaag	aggaagatgg	ctgtagctgc	cgatttccag	aagaagaaga	aggaggatgt	1140
gaactgagag	tgaagttcag	caggagcgc	gacgcccccg	cgtacaagca	gggccagaac	1200
cagctctata	acgagctcaa	tctaggacga	agagaggagt	acgatgtttt	ggacaagaga	1260
cgtggccggg	accctgagat	gggggaaag	ccgagaagga	agaaccctca	ggaaggcctg	1320
tacaatgaac	tcagaaaaga	taagatggcg	gaggcctaca	gtgagattgg	gatgaaaggc	1380
gagcgcggga	ggggcaaggg	gcacgatggc	ctttaccagg	gtctcagtac	agccaccaag	1440

5

gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gc 1482

<210> 109

<211> 680

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 109

ES 2 814 962 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 Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
 20 25 30

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

Ser Glu Ser Val Asp Asn Tyr Gly Asn Thr Phe Met His Trp Tyr Gln
 50 55 60

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

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

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Ala Gly
 115 120 125

Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140

Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu
 145 150 155 160

Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
 165 170 175

Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys
 180 185 190

ES 2 814 962 T3

Ser Phe Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Ser Thr
195 200 205

Tyr Ser Ala Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser
210 215 220

Ala Ser Thr Ala Tyr Leu His Ile Asn Asp Leu Lys Asn Glu Asp Thr
225 230 235 240

Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met Asp Tyr
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Ser Gly Glu
260 265 270

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305 310 315 320

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
405 410 415

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
435 440 445

ES 2 814 962 T3

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
485 490 495

Ser Leu Gly Lys Met Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
500 505 510

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
515 520 525

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

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

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

Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
580 585 590

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

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
610 615 620

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

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
645 650 655

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

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
675 680

<210> 110

<211> 2040

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 110

5

ES 2 814 962 T3

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60
 cccggatccg acatcgtgct gacacagagc cctgcttccc tggccgtgtc cctgggacag 120
 agagccacaa tcagctgcag ggcagcgag agcgtggaca actacggcaa caccttcatg 180
 cactggtatc agcagaagcc cggccagccc cccaagctgc tgatctacag agccagcaac 240
 ctggaagcg gcatccccgc cagattttcc ggcagcggca gcagaaccga cttaccctg 300
 accatcaacc cctggaagc cgacgacgtg gccacctact actgccagca gagcaacgag 360
 gacccccca catttgagc cggcaccaag ctggaactga agggcggagg cggatctggc 420
 ggcggaggat cttctggggg aggctctcag attcagctgg tgcaagcgg cccagagctg 480
 aagaaacccg gcgagacagt gaagatctcc tgcaaggcct ccggctacat cttaccaat 540
 tacggcatga actgggtcaa gcaggcccct ggcaagagct tcaagtggat gggctgcatc 600
 aacacctaca ccggcgagag cacctacagc gccgacttca agggcagatt cgccttcagc 660
 ctggaacca gcgccagcac cgctacctg cacatcaacg acctgaagaa cgaggacacc 720
 gccacctatt tctgcgccag aagcggcggc tacgaccca tggattattg gggccagggc 780
 accagcgtga ccgtgtcctc tgctagctcc ggagagagca agtacggccc tccctgcccc 840
 ccttgccctg cccccagatt cctgggcgga cccagcgtgt tcctgttccc cccaagccc 900
 aaggacacc tgatgatcag ccggaccccc gagtgacct gtgtggtggt ggacgtgtcc 960
 caggaggacc ccgaggtcca gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgcc 1020
 aagaccaagc cccgggagga gcagttcaat agcacctacc ggggtggtgtc cgtgctgacc 1080
 gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag gaatacaagt gtaagggtgtc caacaagggc 1140
 ctgccagca gcacgcagaa aaccatcagc aaggccaagg gccagcctcg ggagccccag 1200
 gtgtacacc tgccccctag ccaagaggag atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgc 1260
 ctggtgaagg gcttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa cggccagccc 1320
 gagaacaact acaagaccac cccccctgtg ctggacagcg acggcagctt cttcctgtac 1380
 agccggctga ccgtggacaa gagccggtgg caggagggca acgtctttag ctgctccgtg 1440
 atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc cagaagagcc tgagcctgtc cctgggcaag 1500
 atggatatct acatctgggc gcccttgccc gggacttgtg gggctcttct cctgtcactg 1560
 gttatcacc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1620
 tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1680
 gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 1740
 tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1800
 gatgttttg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1860
 aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcggg ggcctacagt 1920
 gagattggga tgaaggcga gcgccggagg ggcaagggc acgatggcct ttaccaggt 1980
 ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 2040
 <210> 111
 <211> 494
 <212> PRT

ES 2 814 962 T3

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 111

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 Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro
50 55 60

Gly Lys Ser Phe Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu
65 70 75 80

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

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

Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met
115 120 125

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

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

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

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

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

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

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

<210> 112

<211> 1482

<212> ADN

5

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 112

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgccgctaga 60

cccggatccc agatccagct ggtgcagtct ggccccgagc tgaagaaacc cggcgagaca 120

gtgaagatca gctgcaaggc cagcggctac atcttcacca actacggcat gaactgggtc 180

aagcaggccc ctggcaagag cttcaagtgg atgggctgga tcaacaccta caccggcgag 240

agcacctaca gcgccgactt caagggcaga ttcgccttca gcctggaaac cagcgccagc 300

accgcctacc tgcacatcaa cgacctgaag aacgaggaca ccgccaccta cttttgcgcc 360

agaagcggcg gctacgacct catggattat tggggccagg gcaccagcgt gaccgtgtct 420

agcggaggcg gaggatctgg cggaggggga tcttctggcg gcggaagcga tatcgtgctg 480

accagtctc ctgccagcct ggccgtgtct ctgggacaga gagccacaat cagctgccgg 540

gcctctgaga gcgtggacaa ttacggcaac accttcatgc actggtatca gcagaagccc 600

ggccagcccc ccaagctgct gatctacaga gccagcaacc tggaagcgg catccccgcc 660

agattttcog gcagcggcag cagaaccgac ttcaccctga ccatcaacct cgtggaagcc 720

gacgacgtgg ccacctatta ctgccagcag agcaacgagg acccccctac ctttgagacc 780

10

ggcaccaagc tggaactgaa ggctagctcc ggaaccacga cgccagcggc gcgaccacca 840

ES 2 814 962 T3

acaccggcgc ccaccatcgc gtgcgagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 900
 gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960
 gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
 aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaaac catttatgag accagtacaa 1080
 actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
 gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgcccccg cgtacaagca gggccagaac 1200
 cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
 cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320
 tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
 gagcgcggga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
 gacacctaag acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gc 1482

<210> 113

<211> 680

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 113

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 Gly Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro
 20 25 30

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

Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro
 50 55 60

Gly Lys Ser Phe Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu
 65 70 75 80

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

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

10 Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Gly Gly Tyr Asp Pro Met

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
 370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 385 390 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 405 410 415

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 435 440 445

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 485 490 495

Ser Leu Gly Lys Met Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
 500 505 510

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
 515 520 525

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

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

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

Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
 580 585 590

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

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
 610 615 620

ES 2 814 962 T3

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

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
645 650 655

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

His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
675 680

<210> 114

<211> 2040

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 114

atggcctgc	ctgtgacagc	cctgctgctg	cctctggctc	tgctgctgca	tgccgctaga	60
cccggatccc	agatccagct	ggtgcagtct	ggccccgagc	tgaagaaacc	cggcgagaca	120
gtgaagatca	gctgcaaggc	cagcggctac	atcttcacca	actacggcat	gaactgggtc	180
aagcaggccc	ctggcaagag	cttcaagtgg	atgggctgga	tcaacaccta	caccggcgag	240
agcacctaca	gcgccgactt	caagggcaga	ttcgccttca	gcctggaaac	cagcgcacagc	300
accgcctacc	tgacatcaa	cgacctgaag	aacgaggaca	ccgccaccta	cttttgccgc	360
agaagcggcg	gctacgacct	catggattat	tggggccagg	gcaccagcgt	gaccgtgtct	420
agcggaggcg	gaggatctgg	cggaggggga	tcttctggcg	gcggaagcga	tatcgtgctg	480
accagctctc	ctgccagcct	ggccgtgtct	ctgggacaga	gagccacaat	cagctgccgg	540
gcctctgaga	gcgtggacaa	ttacggcaac	accttcatgc	actggtatca	gcagaagccc	600
ggccagcccc	ccaagctgct	gatctacaga	gccagcaacc	tgaaagcgg	catccccgcc	660
agattttccg	gcagcggcag	cagaaccgac	ttcaccctga	ccatcaaccc	cgtggaagcc	720
gacgacgtgg	ccacctatta	ctgccagcag	agcaacgagg	acccccctac	ctttggagcc	780
ggcaccaagc	tggaactgaa	ggctagctcc	ggagagagca	agtacggccc	tccctgcccc	840
ccttgccctg	cccccgagtt	cctgggcgga	cccagcgtgt	tcctgttccc	ccccaaagccc	900
aaggacaccc	tgatgatcag	ccggaccccc	gaggtgacct	gtgtggtggt	ggacgtgtcc	960
caggaggacc	ccgaggtcca	gttcaactgg	tacgtggacg	gcgtggaggt	gcacaacgcc	1020
aagaccaagc	cccgggagga	gcagttcaat	agcacctacc	gggtggtgtc	cgtgctgacc	1080

10

ES 2 814 962 T3

gtgctgcacc aggactggct gaacggcaag gaatacaagt gtaagggtgc caacaagggc 1140
ctgcccagca gcatcgagaa aaccatcagc aaggccaagg gccagcctcg ggagccccag 1200
gtgtacaccc tgccccctag ccaagaggag atgaccaaga accaggtgtc cctgacctgc 1260
ctgggtgaagg gcttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa cggccagccc 1320
gagaacaact acaagaccac cccccctgtg ctggacagcg acggcagctt cttcctgtac 1380
agccggctga cctgggacaa gagccgggtg caggagggca acgtcttttag ctgctccgtg 1440
atgcacgagg ccctgcacaa ccaactacacc cagaagagcc tgagcctgtc cctgggcaag 1500
atggatatct acatctgggc gcccttggcc gggacttgtg gggctcttct cctgtcactg 1560
gttatcacc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1620
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1680
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcctccgcg 1740
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1800
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1860
aacctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1920
gagattggga tgaagggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccaggg 1980
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggcctt gccccctcgc 2040

<210> 115

<211> 487

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 115

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 Gly Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser
20 25 30

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

Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly
50 55 60

10 Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
65 70 75 80

ES 2 814 962 T3

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
85 90 95

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

Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
115 120 125

Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly
145 150 155 160

Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
165 170 175

Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Asp Gln Gly Leu Glu Trp
180 185 190

Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys
195 200 205

Phe Lys Asp Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
210 215 220

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

Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
245 250 255

Thr Val Ser Ser Ala Ser Ser Gly 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

ES 2 814 962 T3

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 Lys 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> 116

<211> 1461

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 116

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctaga 60

cccgatccg acgtgcagat cacacagagc cctagctacc tggccgccag ccctggcgag 120

acaatcacca tcaactgccg ggccagcaag agcatcagca aggacctggc ctggtatcag 180

gaaaagcccg gcaagaccaa caagctgctg atctacagcg gcagaccct gcagagcggc 240

atccccagca gattttccgg cagcggctcc ggcaccgact tcaccctgac aatcagcagc 300

5

10

ES 2 814 962 T3

ctggaacccg aggacttcgc catgtactac tgccagcagc acaacaagta cccctacacc 360
 ttcggcggag gcaccaagct ggaaatcaag ggcggaggcg gatctggcgg cggaggaagt 420
 tctggcggag gatctcaggt gcagctgcag cagccaggcg ctgaactcgt gcggcctggc 480
 gcttctgtga agctgagctg taaagccagc ggctacacct ttaccagcta ctggatgaac 540
 tgggtcaagc agcggcccga ccagggcctg gagtggatcg gcagaatcga cccctacgac 600
 agcgagacac actacaacca gaagttcaag gacaaggcca tcctgaccgt ggacaagagc 660
 agctccaccg cctacatgca gctgtccagc ctgaccagcg aggacagcgc cgtgtactat 720
 tgcgccaggg gcaactggga cgactactgg ggccagggca caaccctgac agtgtcctct 780
 gctagctccg gaaccacgac gccagcgcgc cgaccacca caccggcgcc caccatcgcg 840
 tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 900
 acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 960
 ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1020
 ctgtatatat tcaaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1080
 tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 1140
 aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1200
 ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg 1260
 ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1320
 aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgcgggag gggcaagggg 1380
 cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1440
 atgcaggccc tgcccctcg c 1461

<210> 117

<211> 673

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 117

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 Gly Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser
 20 25 30

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

10

ES 2 814 962 T3

Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly
50 55 60

Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly
65 70 75 80

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
85 90 95

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

Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
115 120 125

Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly
145 150 155 160

Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser
165 170 175

Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Asp Gln Gly Leu Glu Trp
180 185 190

Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys
195 200 205

Phe Lys Asp Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
210 215 220

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

Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
245 250 255

Thr Val Ser Ser Ala Ser Ser Gly Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
260 265 270

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

ES 2 814 962 T3

290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Met Asp Ile
485 490 495

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

Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys 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

ES 2 814 962 T3

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 Lys 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> 118

<211> 2019

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 118

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctaga 60

cccggatccg acgtgcagat cacacagagc cctagctacc tggccgccag ccctggcgag 120

acaatcacca tcaactgccg ggccagcaag agcatcagca aggacctggc ctggtatcag 180

gaaaagcccg gcaagaccaa caagctgctg atctacagcg gcagcaccct gcagagcggc 240

atccccagca gattttccgg cagcggctcc ggcaccgact tcaccctgac aatcagcagc 300

ctggaaccog aggacttcgc catgtactac tgccagcagc acaacaagta ccctacacc 360

ttcggcggag gcaccaagct ggaaatcaag ggcggaggcg gatctggcgg cggaggaagt 420

tctggcggag gatctcaggt gcagctgcag cagccaggcg ctgaactcgt ggggcctggc 480

5

10

ES 2 814 962 T3

gcttctgtga agctgagctg taaagccagc ggctacacct ttaccagcta ctggatgaac 540
 tgggtcaagc agcggcccga ccagggcctg gagtggatcg gcagaatcga cccctacgac 600
 agcgagacac actacaacca gaagttcaag gacaaggcca tcctgaccgt ggacaagagc 660
 agctccaccg cctacatgca gctgtccagc ctgaccagcg aggacagcgc cgtgtactat 720
 tgcgccaggg gcaactggga cgactactgg ggccagggca caaccctgac agtgtcctct 780
 gctagctccg gagagagcaa gtacggccct ccctgcccc cttgccctgc ccccagttc 840
 ctgggcggac ccagcgtgtt cctgttcccc cccaagcca aggacaccct gatgatcagc 900
 cggacccccg aggtgacctg tgtgggtgtg gacgtgtccc aggaggacc cggaggtccag 960
 ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cacaacgcca agaccaagcc cggggaggag 1020
 cagttcaata gcacctaccg ggtgggtgtcc gtgctgaccg tgctgcacca ggactggctg 1080
 aacggcaagg aatacaagtg taaggtgtcc aacaagggcc tgcccagcag catcgagaaa 1140
 accatcagca agccaaggg ccagcctcgg gagccccagg tgtacaccct gccccctagc 1200
 caagaggaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgcc tggatgaagg cttctacccc 1260
 agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaac ggccagcccg agaacaacta caagaccacc 1320
 ccccctgtgc tggacagcga cggcagcttc ttctgtaca gccggctgac cgtggacaag 1380
 agccggtggc aggagggcaa cgtctttagc tgctccgtga tgcaagaggc cctgcacaac 1440
 cactacacc cagaagagcct gagcctgtcc ctgggcaaga tggatatcta catctgggag 1500
 cccttgccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtactgg ttatcacctt ttactgcaaa 1560
 cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaacat ttatgagacc agtacaact 1620
 actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 1680
 ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gccccgcgt acaagcagg ccagaaccag 1740
 ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttga caagagacgt 1800
 ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1860
 aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1920
 cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccaggtc tcagtacagc caccaaggac 1980
 acctacgag cccttccat gcaggccctg ccccctgc 2019

<210> 119

<211> 487

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 119

5

ES 2 814 962 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 Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala
20 25 30

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

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

Asp Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu
65 70 75 80

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

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

Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp Asp Tyr Trp
115 120 125

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

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

Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys
165 170 175

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys
180 185 190

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

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
210 215 220

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr
225 230 235 240

Cys Gln Gln His Asn Lys Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
245 250 255

ES 2 814 962 T3

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Pro Ala Tyr Lys 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> 120

<211> 1461

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 120

5

ES 2 814 962 T3

```

atggccctgc ctgtgacagc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctaga      60
cctggatccc aggtgcagct gcagcagcct ggcgctgaac tcgtgcggcc aggcgcttct      120
gtgaagctga gctgtaaagc cagcggctac accttcacca gctactggat gaactgggtc      180
aagcagcggc ccgaccaggg cctggagtgg atcggcagaa tcgacccta cgacagcgag      240
acacactaca accagaagtt caaggacaag gccatcctga ccgtggacia gagcagcagc      300
accgcctaca tgcagctgtc cagcctgacc agcgaggaca gcgccgtgta ctactgcgcc      360
aggggcaact gggacgacta ttggggccag ggcaccacc tgacagtgtc tagcggaggc      420
ggaggatctg gcggcgagg aagttctggc ggaggctccg acgtgcagat caccagagc      480
cctagctacc tggccgcctc tctggcgag acaatcacca tcaactgccg ggccagcaag      540
agcatctcca aggacctggc ctggtatcag gaaaagcccg gcaagaccaa caagctgctg      600
atctacagcg gcagcaccct gcagagcggc atccccagca gattttccgg cagcggctcc      660
ggcaccgact tcaccctgac catcagctcc ctggaaccgg aggactttgc catgtactat      720
tgccagcagc acaacaagta cccttacacc ttcggcggag gcaccaagct ggaaatcaag      780
gccagctccg gaaccacgac gccagcggcg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg      840
tcgcagcccc tgtccctgcy cccagagcgy tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac      900
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt      960
ggggtccttc tctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc     1020
ctgtatatat tcaaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc     1080
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc     1140
aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat     1200
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccggga ccctgagatg     1260
gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat     1320
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcggcggag gggcaagggg     1380
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac     1440
atgcaggccc tgccccctcg c                                     1461
<210> 121
<211> 673
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<221> fuente
<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
<400> 121

```

5

ES 2 814 962 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 Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala
 20 25 30

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

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

Asp Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asp Ser Glu
 65 70 75 80

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

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

Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asn Trp Asp 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 Ser Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser
 145 150 155 160

Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys
 165 170 175

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys
 180 185 190

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

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 210 215 220

ES 2 814 962 T3

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

ES 2 814 962 T3

```

465                               470                               475                               480

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Met Asp Ile
                               485                               490                               495

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

Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys 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 Lys 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> 122

<211> 282

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=>Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 122

5

ES 2 814 962 T3

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

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

Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys
 35 40 45

Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro
 50 55 60

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

Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly
 85 90 95

Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val
 100 105 110

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

Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn
 130 135 140

Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro
 145 150 155 160

Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys
 165 170 175

Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser
 180 185 190

Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu
 195 200 205

Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro
 210 215 220

Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser
 225 230 235 240

Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr
 245 250 255

Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg
 260 265 270

Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His
 275 280

<210> 123

<211> 847
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 123
 aggtggcccg aaagtoccaa ggcccaggca tctagtgttc ctactgcaca gcccaggca 60
 gaaggcagcc tagccaaagc tactactgca cctgccacta cgcgcaatac tggccgtggc 120
 ggggaggaga agaaaaagga gaaagagaaa gaagaacagg aagagagga gaccaagacc 180
 cctgaatgtc catcccatac ccagccgctg ggcgtctatc tcttgactcc cgcagtacag 240
 gacttggtggc ttagagataa ggccaccttt acatgtttcg tcgtgggctc tgacctgaag 300
 gatgcccatt tgacttggga ggttgccgga aaggtacca caggggggggt tgaggaaggg 360
 ttgctggagc gccattccaa tggctctcag agccagcact caagactcac cottccgaga 420
 tccctgtgga acgccgggac ctctgtcaca tgtactctaa atcatcctag cctgccccca 480
 cagcgtctga tggcccttag agagccagcc gcccaggcac cagttaagct tagcctgaat 540
 ctgctcgcca gtagtgatcc cccagaggcc gccagctggc tcttatgcga agtgtccggc 600
 tttagcccgc ccaacatctt gctcatgtgg ctggaggacc agcgagaagt gaacaccagc 660
 ggcttcgctc cagcccggcc cccaccccag ccgggttcta ccacattctg ggcttgaggt 720
 gtcttaaggg tcccagcacc acctagcccc cagccagcca catacacctg tgttgtgtcc 780
 catgaagata gcaggaccct gctaaatgct tctaggagtc tggaggtttc ctacgtgact 840
 gaccatt 847
 <210> 124
 10 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 15 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 124
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10
 <210> 125
 <211> 30
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Oligonucleótido sintético"
 25 <400> 125
 ggtggcggag gttctggagg tggaggttcc 30
 <210> 126
 <211> 30
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <220>

<221> característica miscelánea
 <222> (1)..(30)
 <223> /nota=»Esta secuencia puede abarcar 1, 2, 3, 4, 5 o 6 unidades
 repetitivas 'Gly Gly Gly Gly Ser'
 5 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (6)..(30)
 <223> /reemplazar=" "
 <220>
 10 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(30)
 <223> /nota=»Residuos variantes dados en la secuencia no tienen preferencia
 con respecto a los de las anotaciones para posiciones variantes"
 <220>
 15 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(30)
 <223> /nota="Véase la memoria descriptiva tal como ha sido presentada para una
 descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas"
 <400> 126
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 20 25 30
 <210> 127
 <211> 150
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <400> 127
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 150
 30 <210> 128
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Etiqueta 6xHis sintética"
 <400> 128
 His His His His His His
 1 5
 <210> 129
 40 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 45 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 129
 Gly Gly Gly Ser
 1
 <210> 130
 <211> 20

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 5 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 130
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

 Gly Gly Gly Ser
 20
 10 <210> 131
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Péptido sintético"
 <400> 131
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 132
 20 <211> 5000
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 25 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <220>
 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(5000)
 <223> /nota="Esta secuencia puede abarcar entre 50 y 5.000 nucleótidos"
 30 <220>
 <221> variación
 <222> (51)..(5000)
 <223> /reemplazar=" "
 <220>
 35 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(5000)
 <223> /nota="Bases variantes dadas en la secuencia no tienen preferencia con
 respecto a las de las anotaciones para posiciones variantes"
 <220>
 40 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(5000)
 <223> /nota="Véase la memoria descriptiva tal como ha sido presentada para una
 descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas"
 <400> 132
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 180
 45 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 240

ES 2 814 962 T3

	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4080
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4140
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4200
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4260
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4320
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4380
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4440
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4500
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4560
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4620
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4680
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4740
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4800
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4860
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4920
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	4980
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa	5000
	<210> 133	
	<211> 2000	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<221> fuente	
	<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"	
	<220>	
10	<221> característica miscelánea	
	<222> (1)..(2000)	
	<223> /nota="Esta secuencia puede abarcar entre 50 y 2.000 nucleótidos"	
	<220>	
	<221> variación	
15	<222> (51)..(2000)	
	<223> /reemplazar=" "	
	<220>	
	<221> característica miscelánea	
	<222> (1)..(2000)	
20	<223> /nota="Bases variantes dadas en la secuencia no tienen preferencia con respecto a las de las anotaciones para posiciones variantes"	
	<400> 133	

ES 2 814 962 T3

aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	60
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	120
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	180
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	240
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	300
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	360
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	420
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	480
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	540
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	600
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	660
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	720
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	780
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	840
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	900
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	960
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1020
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1080
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1140
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1200
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1260
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1320
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1380
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1440
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1500
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1560
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1620
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1680
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1740
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1800
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1860
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1920
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	1980
aaaaaaaa	aaaaaaaa					2000
<210>	134					
<211>	100					
<212>	ADN					

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 5 <400> 134
 tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60

 tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 100
 <210> 135
 <211> 5000
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"
 <220>
 15 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(5000)
 <223> /nota="Esta secuencia puede abarcar entre 50 y 5.000 nucleótidos"
 <220>
 <221> variación
 20 <222> (51)..(5000)
 <223> /reemplazar=" "
 <220>
 <221> característica miscelánea
 <222> (1)..(5000)
 25 <223> /nota="Bases variantes dadas en la secuencia no tienen preferencia con
 respecto a las de las anotaciones para posiciones variantes"
 <400> 135
 tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 60

 tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 120

 tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 180

 tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 240

	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4080
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4140
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4200
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4260
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4320
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4380
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4440
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4500
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4560
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4620
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4680
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4740
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4800
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4860
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4920
	tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	4980
	tttttttttt tttttttttt	5000
	<210> 136	
	<211> 5000	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<221> fuente	
	<223> /nota=»Descripción de Secuencia Artificial: Polinucleótido sintético"	
	<220>	
10	<221> característica miscelánea	
	<222> (1)..(5000)	
	<223> /nota="Esta secuencia puede abarcar entre 100 y 5.000 nucleótidos"	
	<220>	
	<221> variación	
15	<222> (101)..(5000)	
	<223> /reemplazar=" "	
	<220>	
	<221> característica miscelánea	
	<222> (1)..(5000)	
20	<223> /nota="Bases variantes dadas en la secuencia no tienen preferencia con respecto a las de las anotaciones para posiciones variantes"	
	<400> 136	

ES 2 814 962 T3

aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3780
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3840
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3900
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	3960
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4020
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4080
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4140
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4200
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4260
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4320
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4380
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4440
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4500
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4560
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4620
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4680
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4740
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4800
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4860
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4920
aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	aaaaaaaa	4980
aaaaaaaa	aaaaaaaa					5000

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR), en donde dicho CAR comprende un dominio de unión anti-CD123 humanizado, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización primario, un dominio coestimulador o ambos. un dominio de señalización primario y un dominio coestimulador, y en donde dicho dominio de unión anti-CD 123 humanizado comprende:

(a) una región variable de la cadena ligera, que comprende:

una región determinante de complementariedad de la cadena ligera 1 (LC CDR1) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 20, una región determinante de complementariedad de la cadena ligera 2 (LC CDR2) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 21, y una región determinante de complementariedad de la cadena ligera 3 (LC CDR3) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 22, y

una región variable de la cadena pesada, que comprende:

una región determinante de complementariedad de la cadena pesada 1 (HC CDR1) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 16, una región determinante de complementariedad de la cadena pesada 2 (HC CDR2) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 17, y una región determinante de complementariedad de la cadena pesada 3 (HC CDR3) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 18; o

(b) una región variable de la cadena ligera, que comprende:

una región determinante de complementariedad de la cadena ligera 1 (LC CDR1) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 28, una región determinante de complementariedad de la cadena ligera 2 (LC CDR2) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 29, y una región determinante de complementariedad de la cadena ligera 3 (LC CDR3) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 30, y

una región variable de la cadena pesada, que comprende:

una región determinante de complementariedad de la cadena pesada 1 (HC CDR1) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 24, una región determinante de complementariedad de la cadena pesada 2 (HC CDR2) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 25, y una región determinante de complementariedad de la cadena pesada 3 (HC CDR3) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 26, en donde:

(i) el dominio de unión anti-CD123 codificado comprende la región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, o SEQ ID NO: 78, o el dominio de unión anti-CD123 comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones, pero no más de 10 modificaciones de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera proporcionada en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, o SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos proporcionada en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, o SEQ ID NO: 78; y

(ii) el dominio de unión anti-CD123 codificado comprende la región variable de la cadena pesada de SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, o SEQ ID NO: 78, o el dominio de unión anti-CD123 comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones, pero no más de 10 modificaciones de una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada proporcionada en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, o SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con una secuencia de aminoácidos proporcionada en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72, o SEQ ID NO: 78.

2. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 1, en donde:

(i) el dominio de unión anti-CD123 comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 78, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas;

(ii) la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio de unión anti-CD123 comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 73 y SEQ ID NO: 79, o una secuencia con 95-99% de identidad con las mismas; y/o

(iii) el dominio de unión anti-CD123 es un scFv.

3. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde:

(i) el CAR codificado comprende un dominio transmembrana que comprende un dominio transmembrana de una proteína seleccionada del grupo que consiste en la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y CD154;

(ii) el dominio transmembrana codificado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; una secuencia de aminoácidos que comprende al menos una, dos o tres modificaciones, pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; o una secuencia de aminoácidos con 95-99% de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; y/o

(iii) la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio transmembrana comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 12, o una secuencia de ácido nucleico con 95-99% de identidad de la misma.

4. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el dominio de unión anti-CD123 codificado está conectado al dominio transmembrana por una región de bisagra, opcionalmente en donde:

la región de bisagra codificada comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 4, 104, 122 o 124, o una secuencia con 95-99% de identidad de la misma; o

la secuencia de ácido nucleico que codifica la región de bisagra comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 11, o una secuencia de ácido nucleico con 95-99% de identidad de la misma.

5. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio de señalización primario y un dominio coestimulador, p. ej., un dominio de señalización funcional de una proteína seleccionada del grupo que consiste en OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) y 4-1BB (CD137), opcionalmente en donde:

(i) el dominio coestimulador codificado comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23;

(ii) el dominio coestimulador codificado comprende una secuencia de aminoácidos que comprende al menos una, dos o tres modificaciones pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23; o una secuencia con 95-99% de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23; o

(iii) la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio coestimulador comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 27, o una secuencia de ácido nucleico con 95-99% de identidad con la misma.

6. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde:

(i) el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio de señalización primario;

(ii) el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio de señalización coestimulador;

(iii) el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio de señalización funcional de 4-1BB y un dominio de señalización funcional de CD3 zeta;

(iv) el dominio coestimulador codificado comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23; una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23; o una secuencia con 95-99% de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23, y el dominio de señalización primario codificado comprende la secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98; una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98; o una secuencia con 95-99% de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, o SEQ ID NO: 98;

(v) el dominio de señalización intracelular codificado comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 23 y la secuencia de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, en donde las secuencias que comprenden el dominio de señalización intracelular se expresan en el mismo marco y como una sola cadena polipeptídica;

(vi) la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio de señalización intracelular comprende uno o ambos de:

(a) la secuencia de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 27, o una secuencia con 95-99% de identidad de la misma; o

(b) la secuencia de SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 99, o una secuencia con 95-99% de identidad de la misma; y/o

(vii) el dominio de señalización intracelular codificado comprende un dominio de señalización primario que comprende un dominio de señalización funcional derivado de CD3 zeta, FcR gamma, FcR beta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278, CD66d, DAP10 o DAP12, opcionalmente, en donde el dominio de señalización primario comprende un dominio de señalización funcional de CD3 zeta, en donde el CD3 zeta comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos o tres modificaciones pero no más de 20, 10 o 5 modificaciones de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98, o una secuencia con 95-99% de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 98.

7. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que comprende, además, una secuencia conductora, opcionalmente, en donde la secuencia conductora comprende SEQ ID NO: 3.

8. Una molécula de polipéptido aislada codificada por la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-7.

9. La molécula de polipéptido aislada de la reivindicación 8, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 65, SEQ ID. NO: 71, SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 83.

5 10. Una molécula de receptor de antígeno quimérico (CAR) aislada, en donde dicho CAR es un CAR como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-8.

11. Un dominio de unión anti-CD123 humanizado, en donde el dominio de unión es como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2.

10 12. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-7.

13. El vector de la reivindicación 12, en donde:

15 (i) el vector se selecciona del grupo que consiste en un ADN, un ARN, un plásmido, un vector de lentivirus, un vector adenoviral y un vector de retrovirus;

(ii) el vector comprende, además, un promotor, p. ej., un promotor EF-1, tal como un promotor EF-1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 97;

(iii) el vector es un vector transcrito in vitro;

20 (iv) la secuencia de ácido nucleico en el vector comprende, además, una cola de poli (A); y/o

(v) la secuencia de ácido nucleico en el vector comprende, además, una UTR 3'.

25 14. Una célula aislada o población de células que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, la molécula de polipéptido aislada de cualquiera de las reivindicaciones 8-9, el CAR aislado de la reivindicación 10, el dominio de unión de la reivindicación 11 o el vector de cualquiera de las reivindicaciones 12-13, opcionalmente, en donde:

(i) la célula es una célula T, p. ej., una célula T CD8+; y/o

(ii) la célula es una célula humana.

30 15. Un método de:

(i) hacer una célula, que comprende transducir una célula T con la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o el vector de la reivindicación 12 o 13; o

35 (ii) generar una población de células modificada con ARN, que comprenden introducir un ARN transcrito in vitro o ARN sintético en una célula, en donde el ARN comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-7.

40 16. Una célula de la reivindicación 14 para uso en un método de proporcionar una inmunidad antitumoral en un mamífero, comprendiendo dicho método administrar al mamífero una cantidad eficaz de la célula, opcionalmente en donde:

(i) la célula es una célula T autóloga;

(ii) la célula es una célula T alogénica; y/o

45 (iii) el mamífero es un ser humano.

17. Una célula de la reivindicación 14 para uso en un método de tratar un mamífero que tiene una enfermedad asociada con la expresión de CD123, comprendiendo dicho método administrar al mamífero una cantidad eficaz de la célula.

50 18. La célula para uso de la reivindicación 17, en donde:

(i) la enfermedad asociada con CD123 es leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfoide aguda (ALL), síndrome mielodisplásico, leucemia de células pilosas, leucemia prolinfocítica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoide crónica, linfoma de Hodgkin, neoplasia dendrítica plasmocitoide blástica, y cualquier combinación de los mismos;

55 (ii) la célula se administra en combinación con un agente que aumenta la eficacia de la célula;

(iii) la célula se administra en combinación con un agente que mejora uno o más efectos secundarios asociados con la administración de la célula;

(iv) la célula se administra en combinación con un agente que trata la enfermedad asociada con CD123; y/o

60 (v) el mamífero ha recibido previamente tratamiento con una terapia anti-CD19, p. ej. terapia con CD19 CART, opcionalmente en donde el mamífero experimentó una recaída con la terapia anti-CD 19.

19. Una célula de la reivindicación 14 para uso en un método de erradicar al menos una parte de la médula ósea existente en un sujeto, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad eficaz de la célula.

65 20. La célula para uso de la reivindicación 19, en donde:

- (i) el sujeto necesita un trasplante de médula ósea;
- (ii) el sujeto tiene una enfermedad, un trastorno o una afección que se puede tratar con un trasplante de médula ósea, tal como una enfermedad, un trastorno o una afección seleccionado del grupo que consiste en un cáncer hematológico, un tumor sólido, una enfermedad hematológica, un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno de almacenamiento lisosómico y una inmunodeficiencia; y/o
- (iii) el método es un método de acondicionamiento celular antes del trasplante de médula ósea.

21. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, la molécula de polipéptido aislada de cualquiera de las reivindicaciones 8-9, el CAR aislado de la reivindicación 10, el dominio de unión de la reivindicación 11, el vector de cualquiera de las reivindicaciones 12-13, o la célula de la reivindicación 14 para uso como un medicamento.

22. La molécula de ácido nucleico aislada de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, la molécula de polipéptido aislada de cualquiera de las reivindicaciones 8-9, el CAR aislado de la reivindicación 10, el dominio de unión de la reivindicación 11, el vector de cualquiera de las reivindicaciones 12-13, o la célula de la reivindicación 14 para uso en el tratamiento de una enfermedad que expresa CD123.

23. Célula aislada o población de células de la reivindicación 14 para uso en un método de tratar una enfermedad, un trastorno o una afección que se puede tratar con un trasplante de médula ósea o reacondicionamiento de médula ósea, en donde el método erradica al menos una parte de médula ósea existente en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz de la célula o población de células que expresan CAR, en donde el sujeto necesita un trasplante de médula ósea, en donde el método erradica al menos una parte de células normales que expresan CD123 o células progenitoras mieloides de médula ósea que expresan CD123, opcionalmente en donde:

- (i) la enfermedad, el trastorno o la afección que se puede tratar con un trasplante de médula ósea se selecciona del grupo que consiste en un cáncer hematológico, un tumor sólido, una enfermedad hematológica, un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno de almacenamiento lisosómico y una inmunodeficiencia; y/o
- (ii) el método es un método de acondicionamiento celular antes del trasplante de médula ósea.

24. Célula para uso de la reivindicación 23, en donde se erradica toda la médula ósea existente en el sujeto.

25. Célula para uso de la reivindicación 23, en donde la enfermedad, el trastorno o la afección que se puede tratar con un trasplante de médula ósea se selecciona del grupo que consiste en un trastorno metabólico, VIH, HTLV, un trastorno de almacenamiento lisosómico y una inmunodeficiencia.

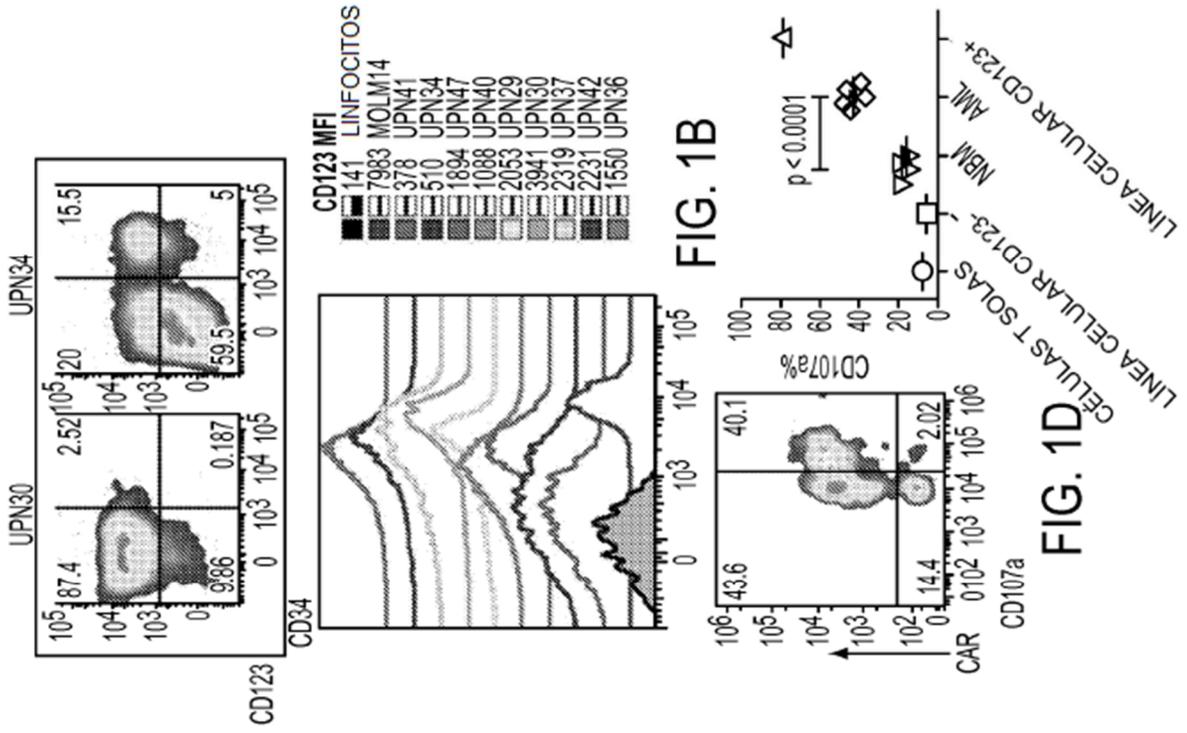


FIG. 1D

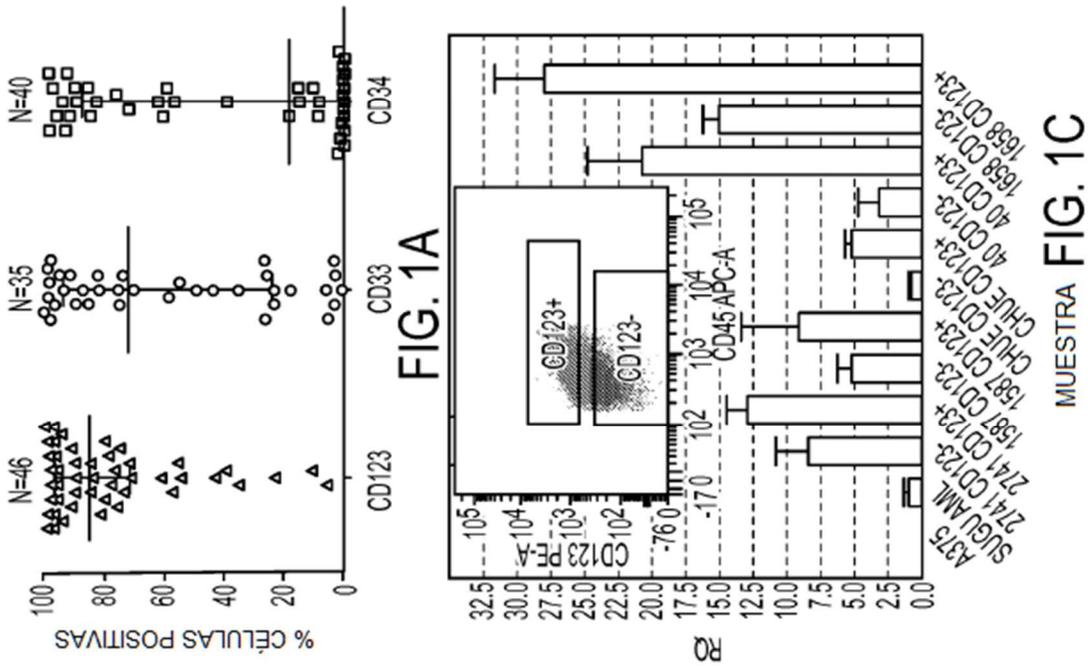


FIG. 1C

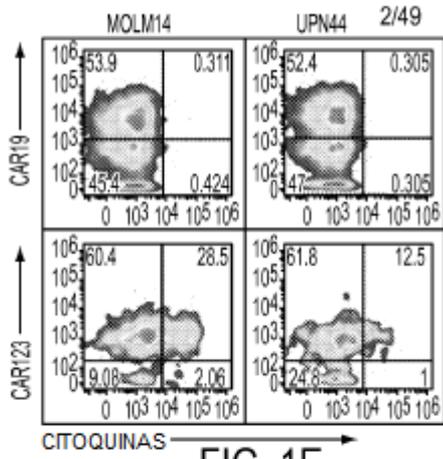


FIG. 1E

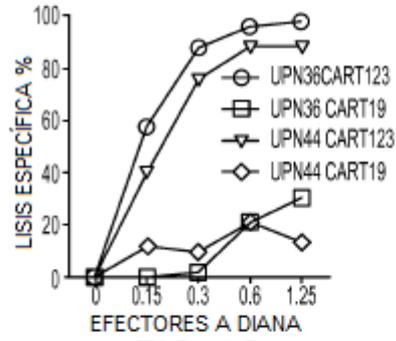


FIG. 1G

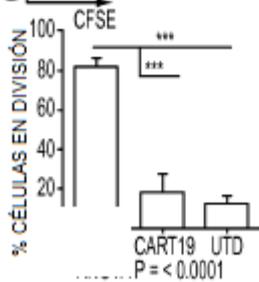
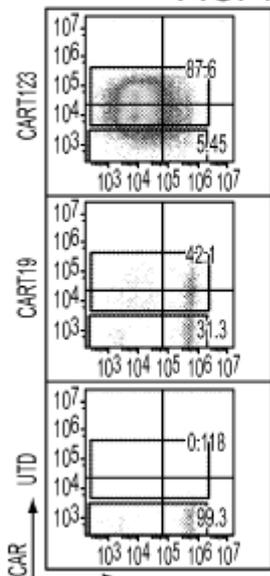


FIG. 1F

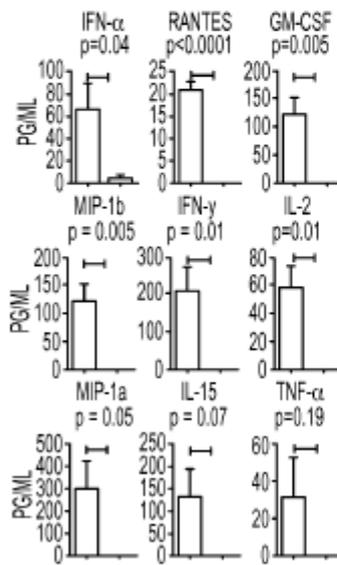
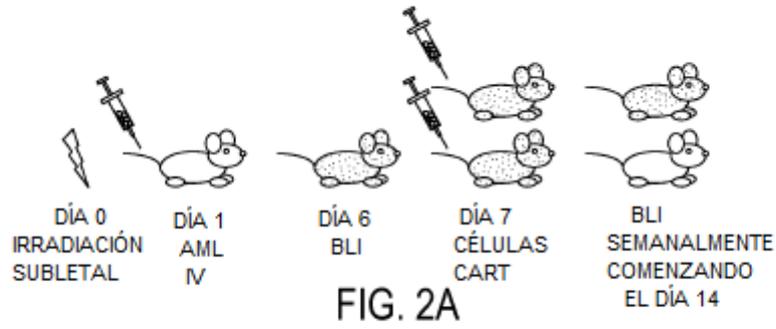


FIG. 1H



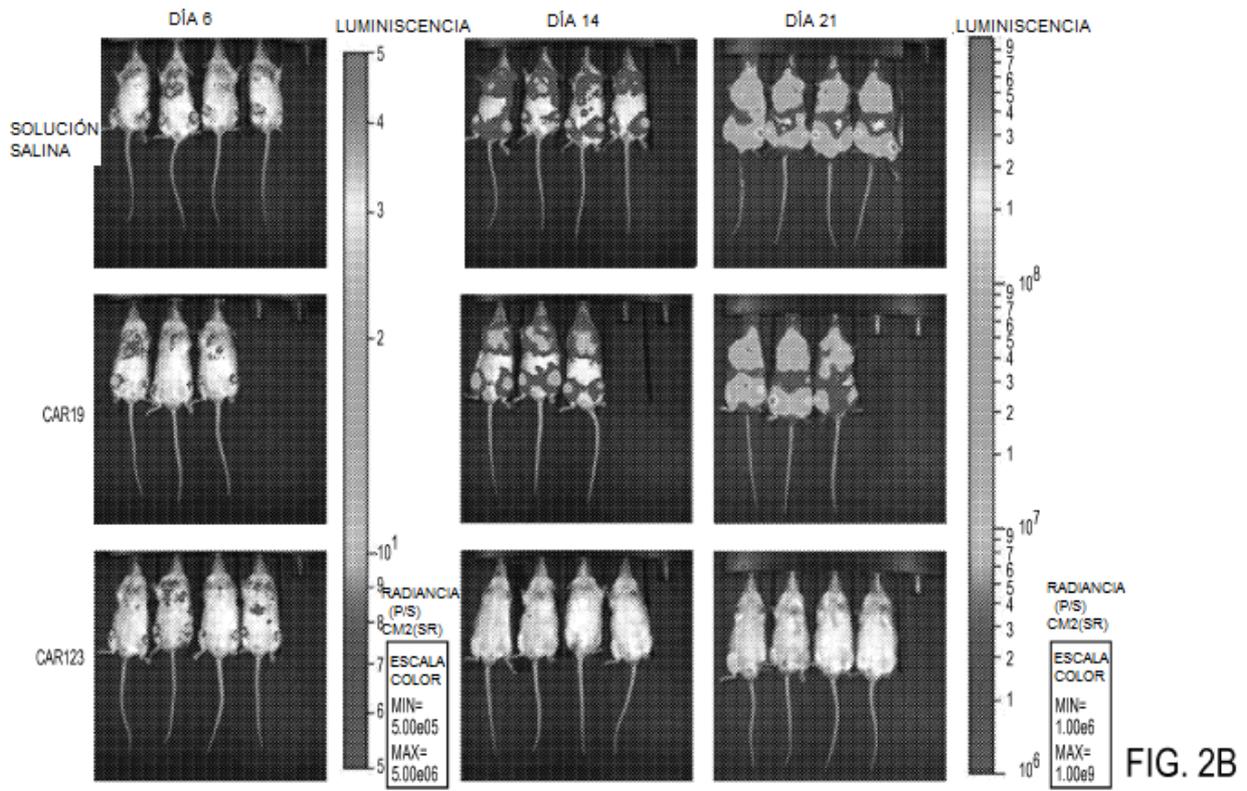


FIG. 2B

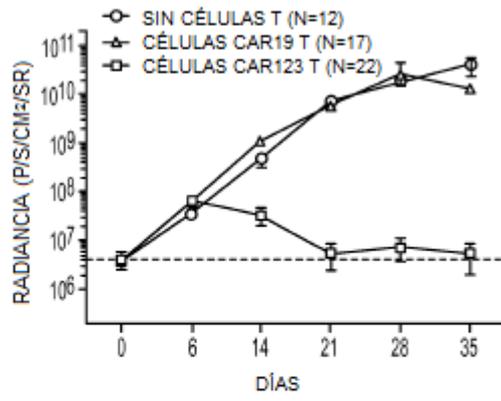


FIG. 2C

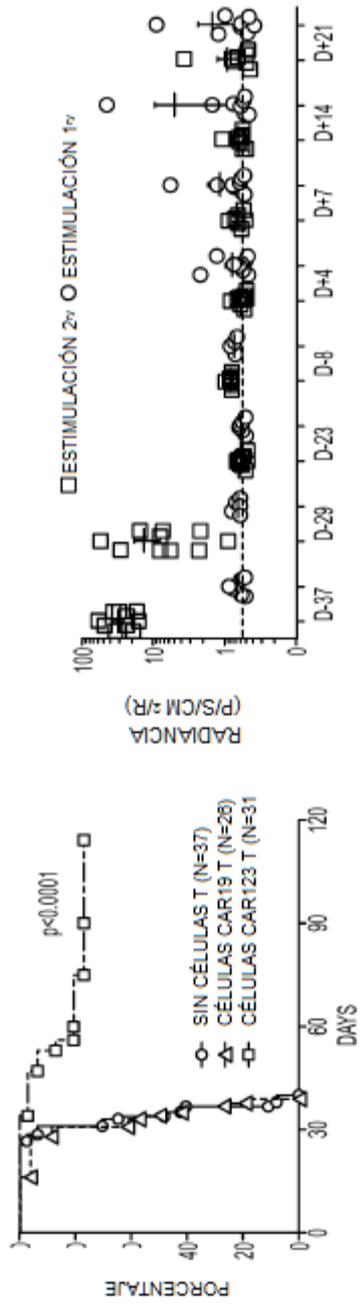


FIG. 2D

FIG. 2F

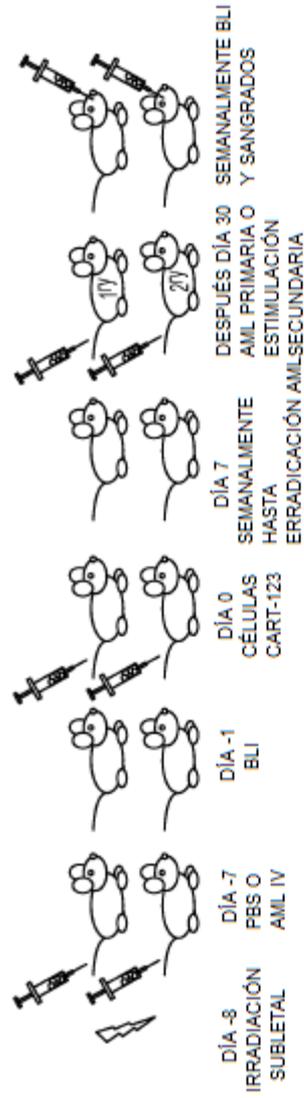


FIG. 2E

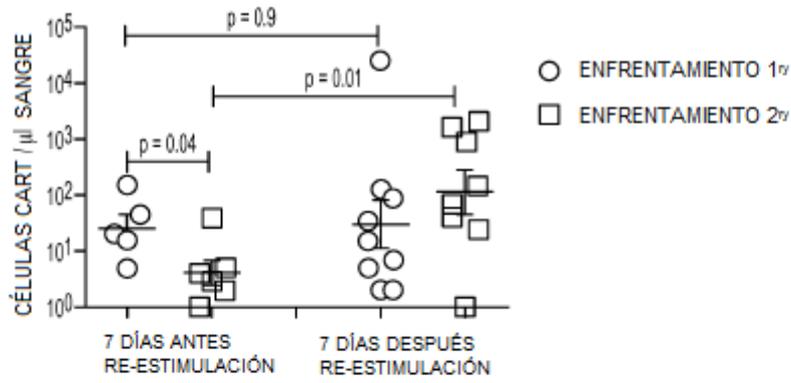


FIG. 2G

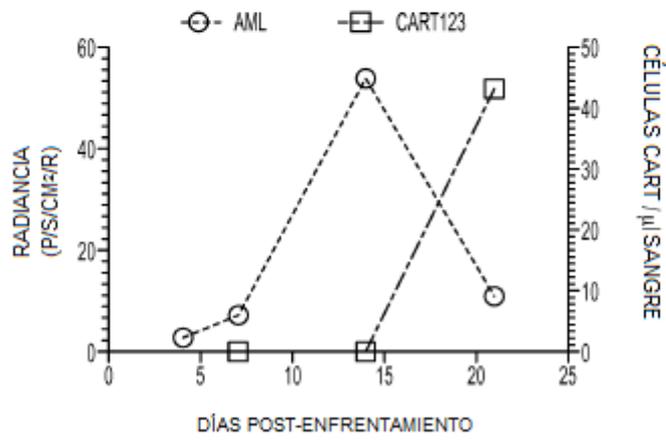


FIG. 2H

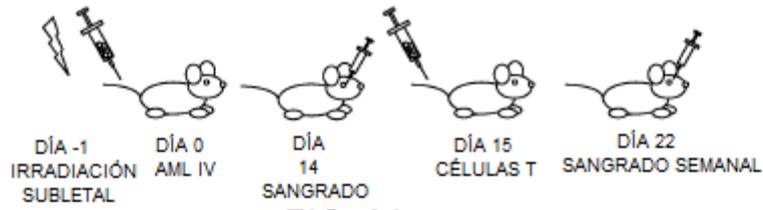


FIG. 3A

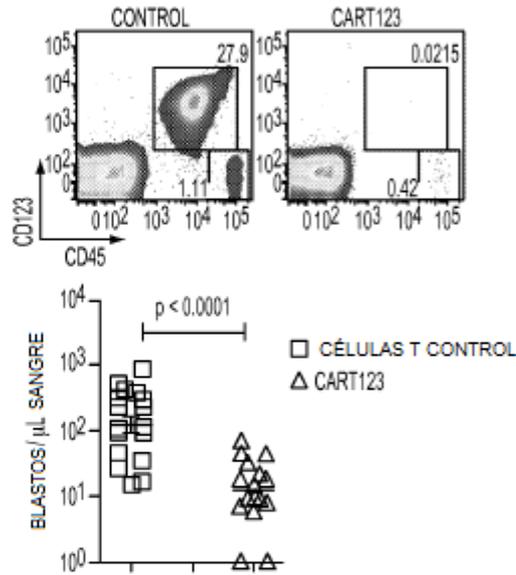


FIG. 3B

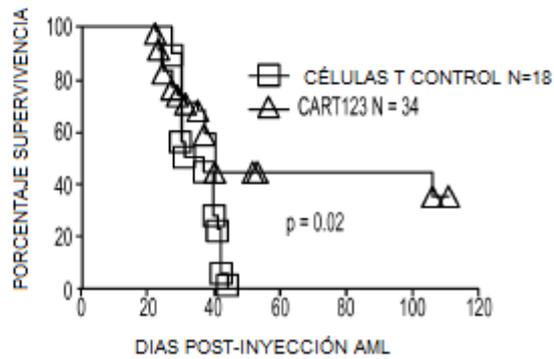


FIG. 3C

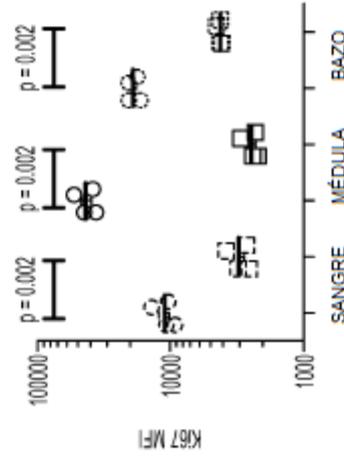
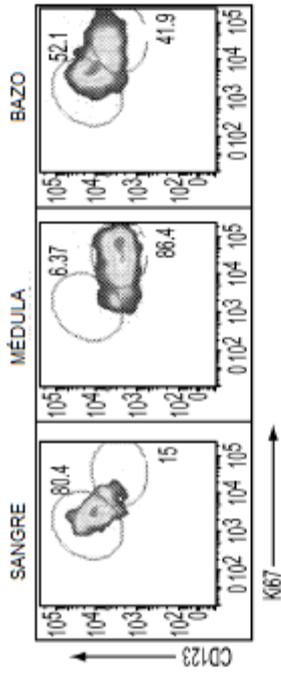


FIG. 3E

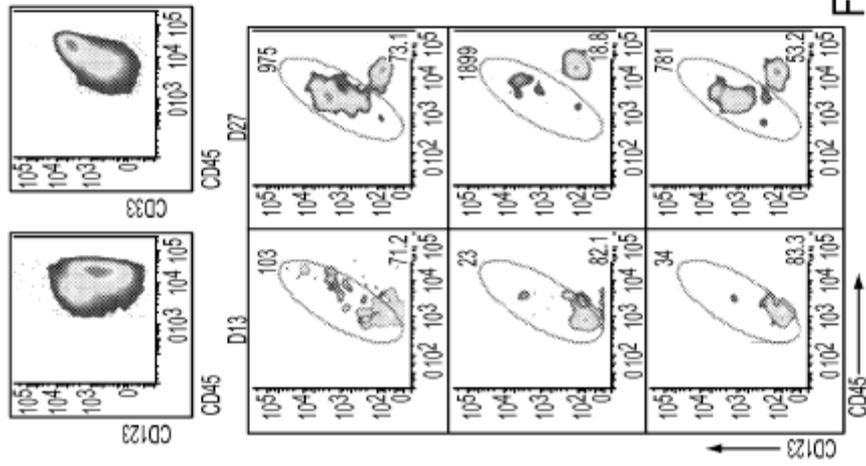


FIG. 3D

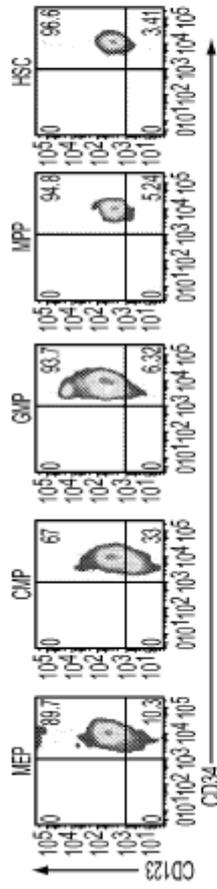


FIG. 4A

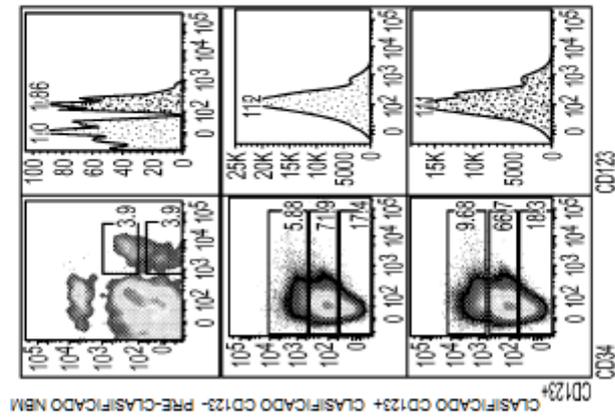


FIG. 4B

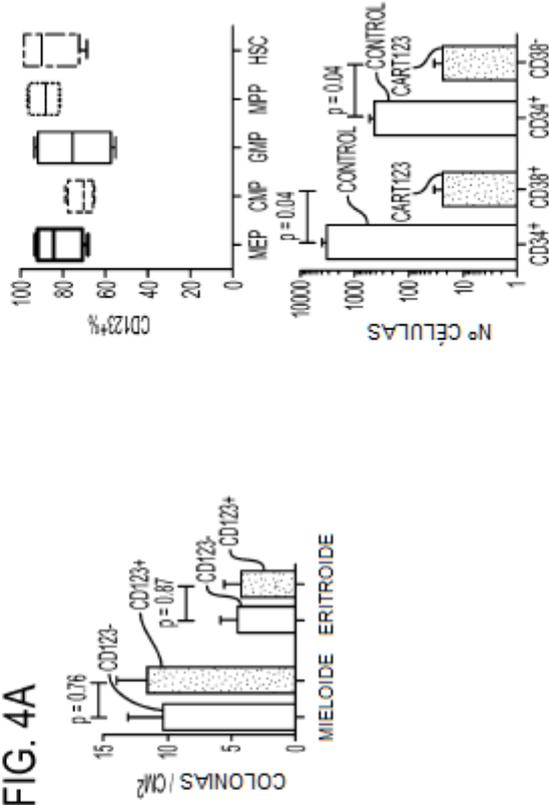


FIG. 4C

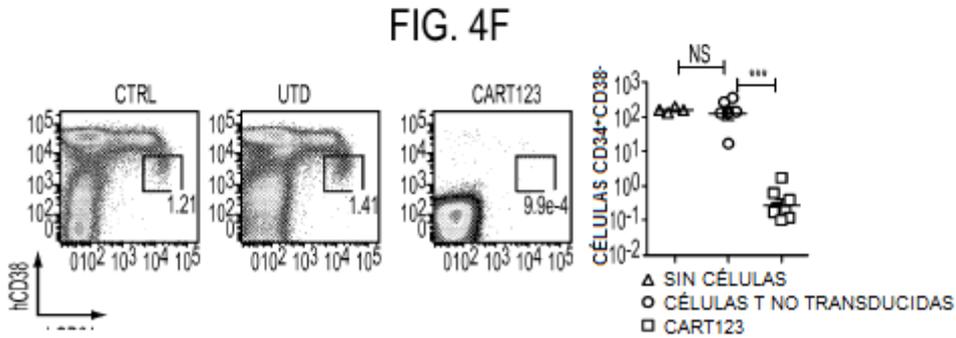
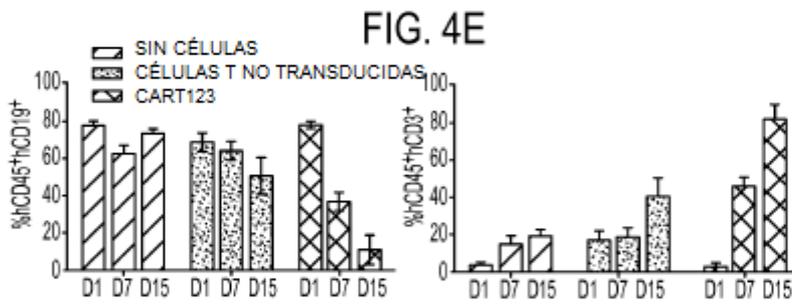
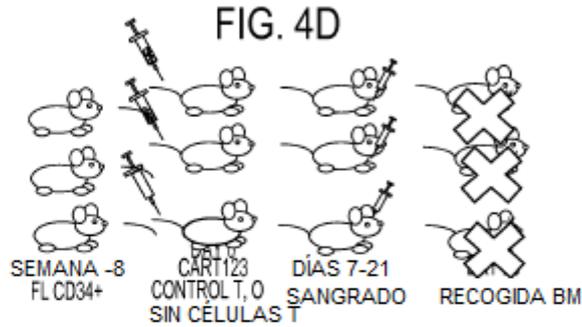
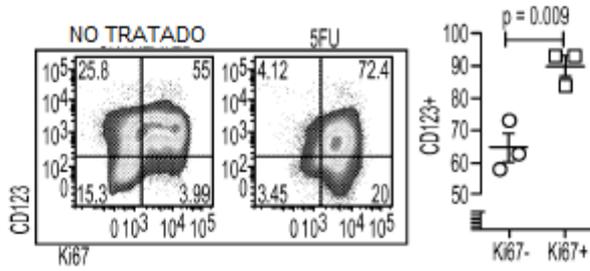


FIG. 4G

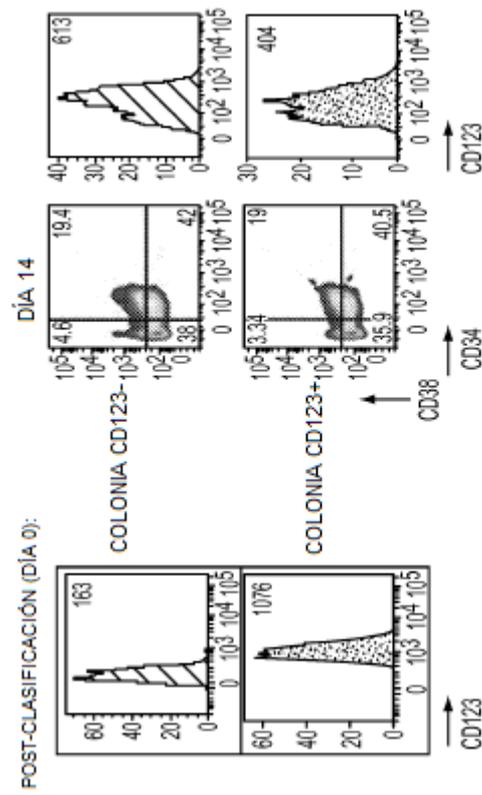


FIG. 5

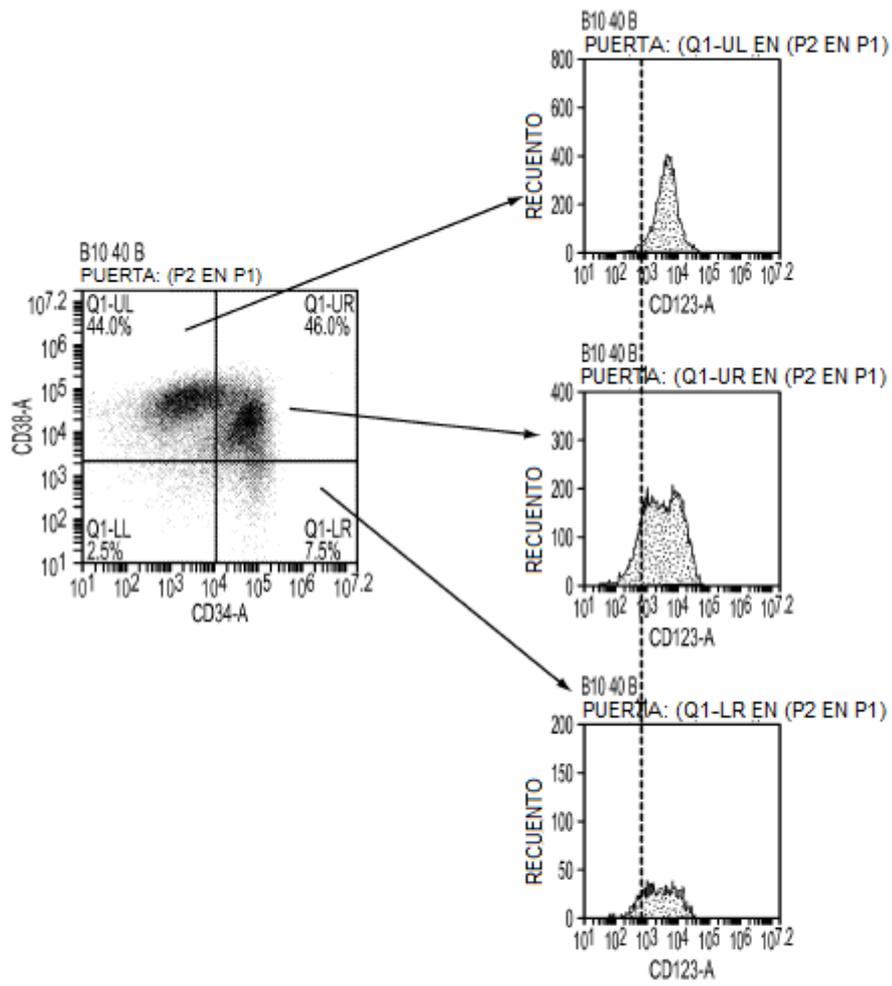


FIG. 6

32716 scFv							
72	V _L	V _H	CD8αH	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ
73	V _H	V _L	CD8αH	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ
74	V _L	V _H	IgG4H	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ
75	V _H	V _L	IgG4H	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ
26292 scFv							
76	V _L	V _H	CD8αH	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ
77	V _H	V _L	CD8αH	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ
78	V _L	V _H	IgG4H	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ
79	V _H	V _L	IgG4H	CD8TM	4-1BB	TCR-ζ	TCR-ζ

FIG. 7A

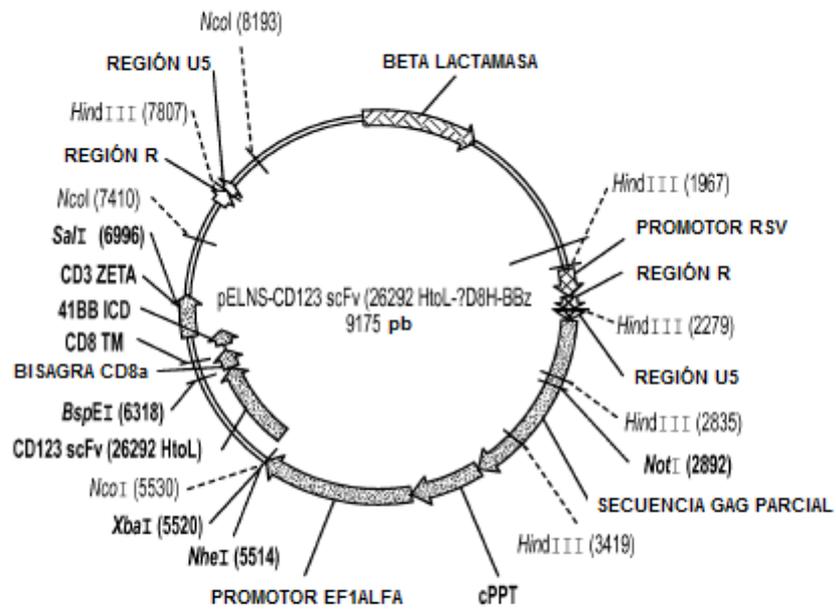


FIG. 7B

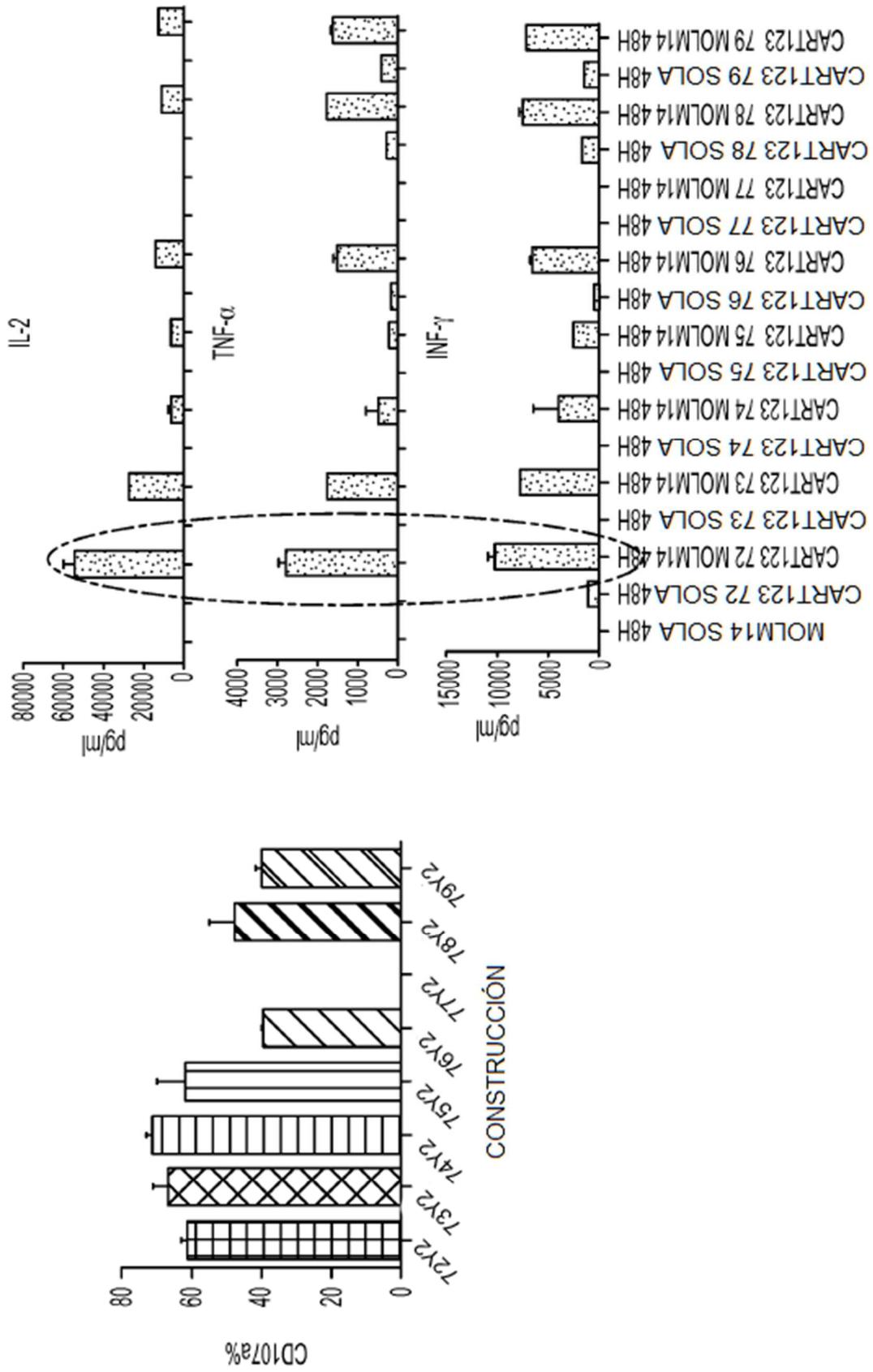


FIG. 8

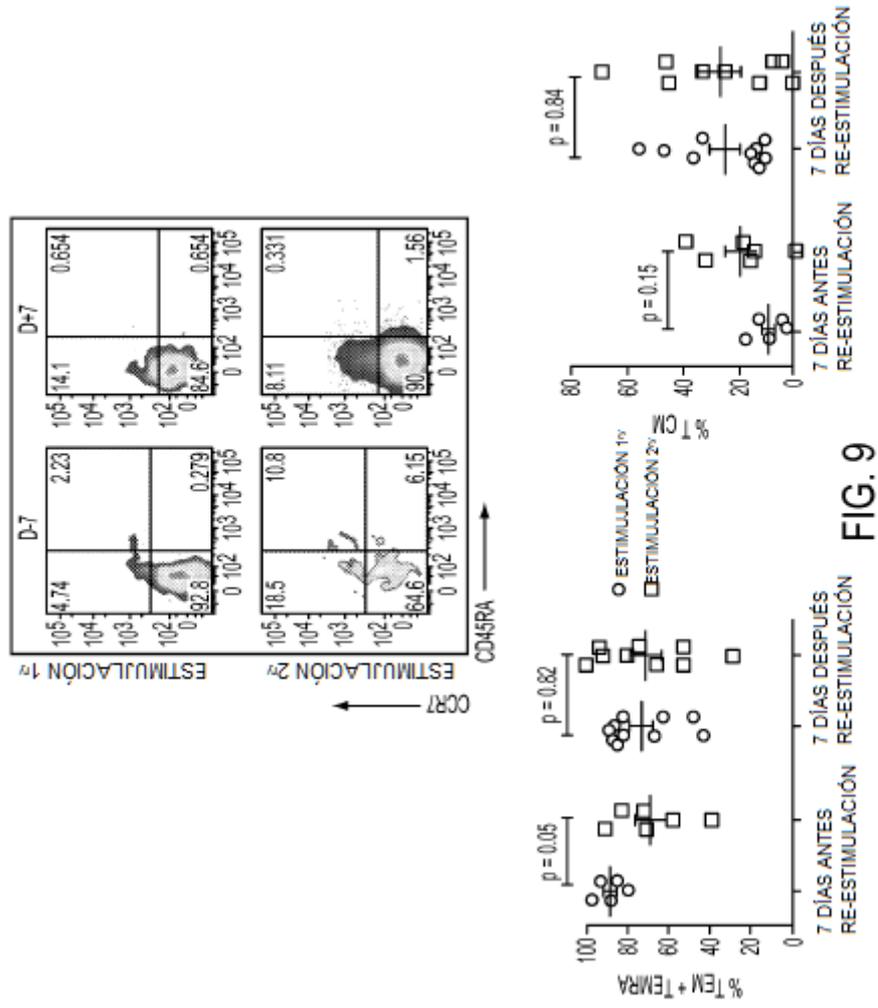


FIG. 9

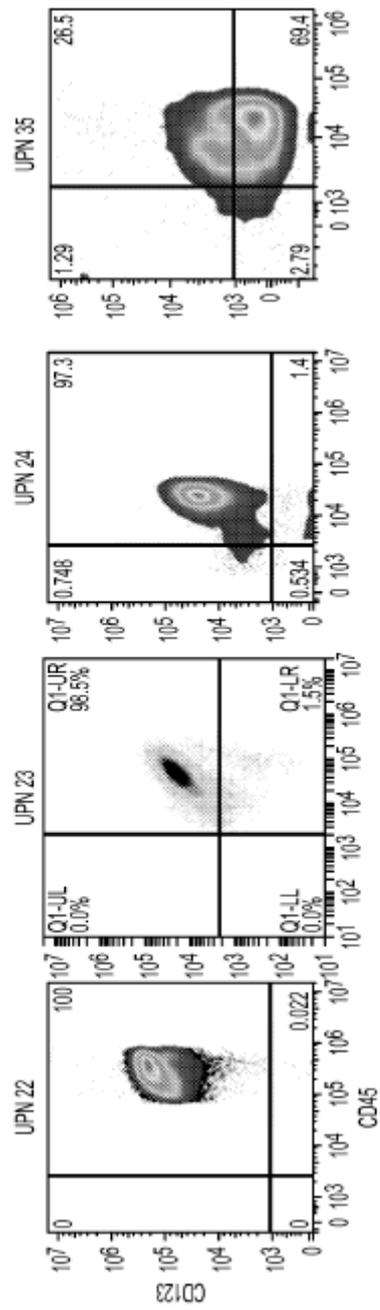


FIG. 10

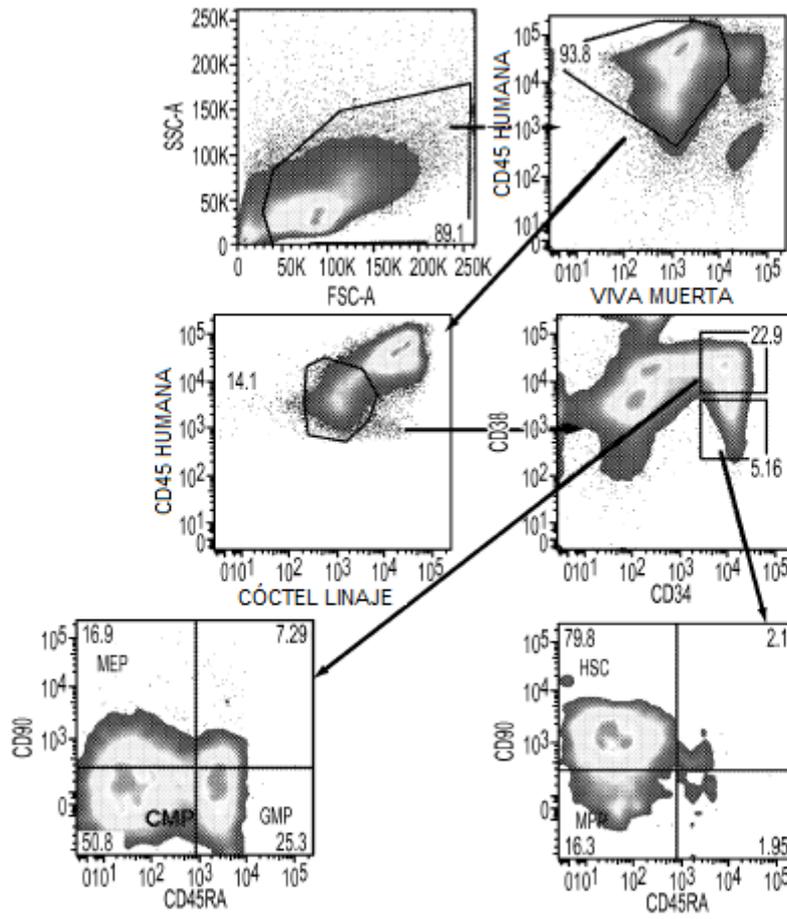


FIG. 11

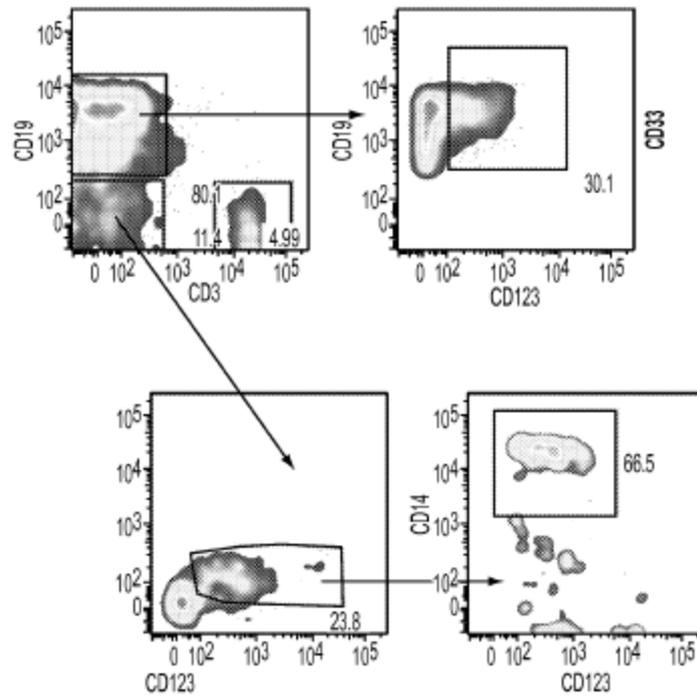


FIG. 12

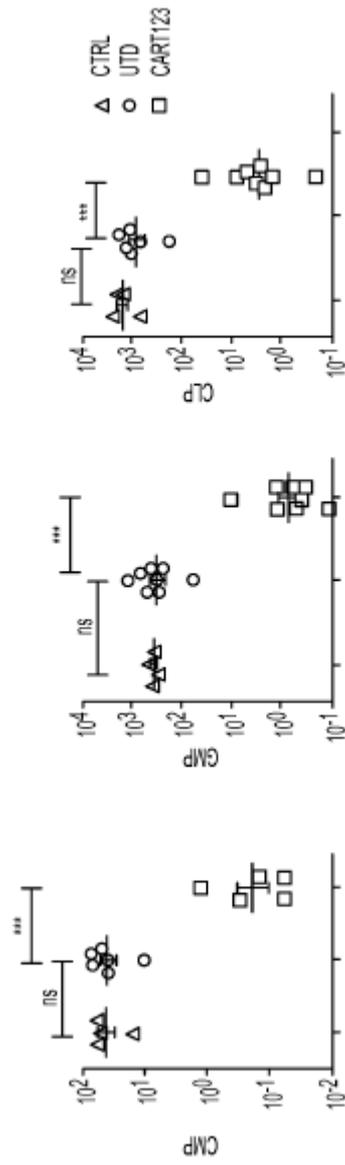


FIG. 13

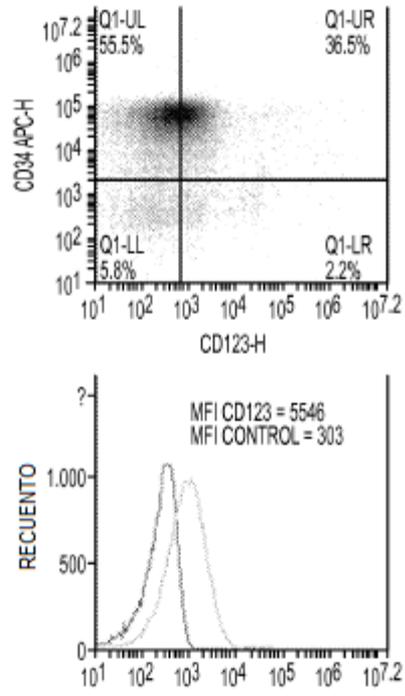


FIG. 14

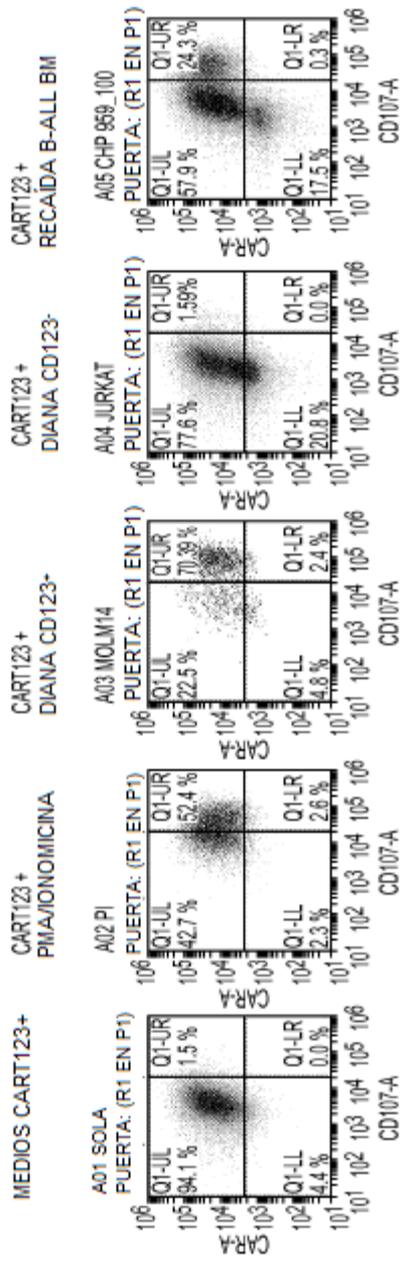


FIG. 15

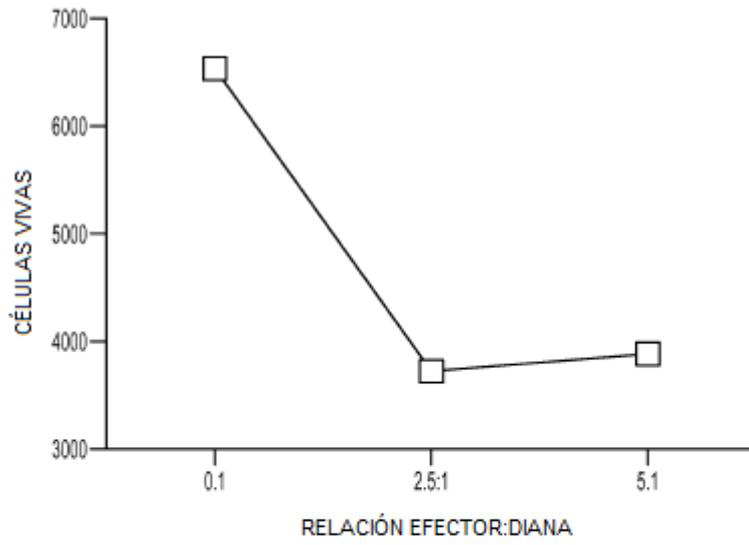


FIG. 16

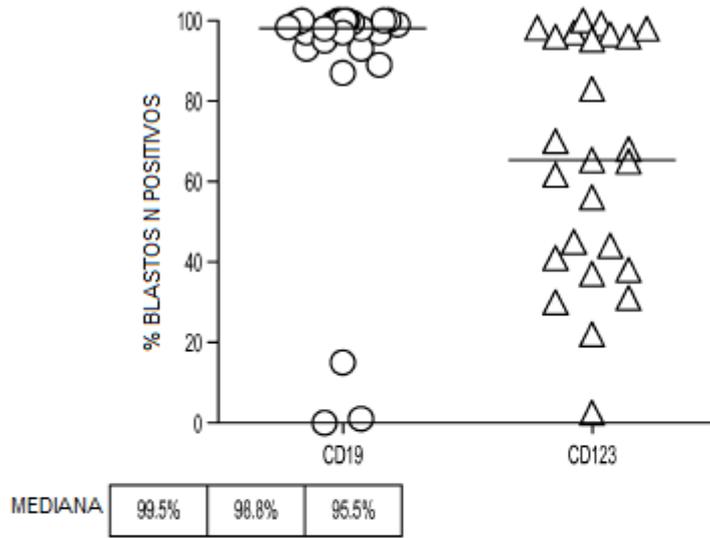


FIG. 17

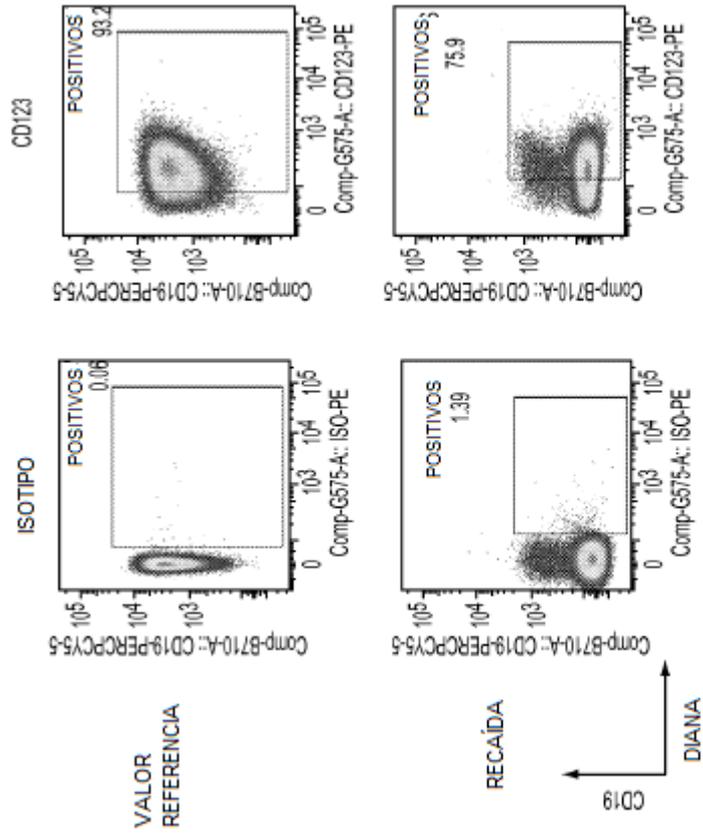


FIG. 18

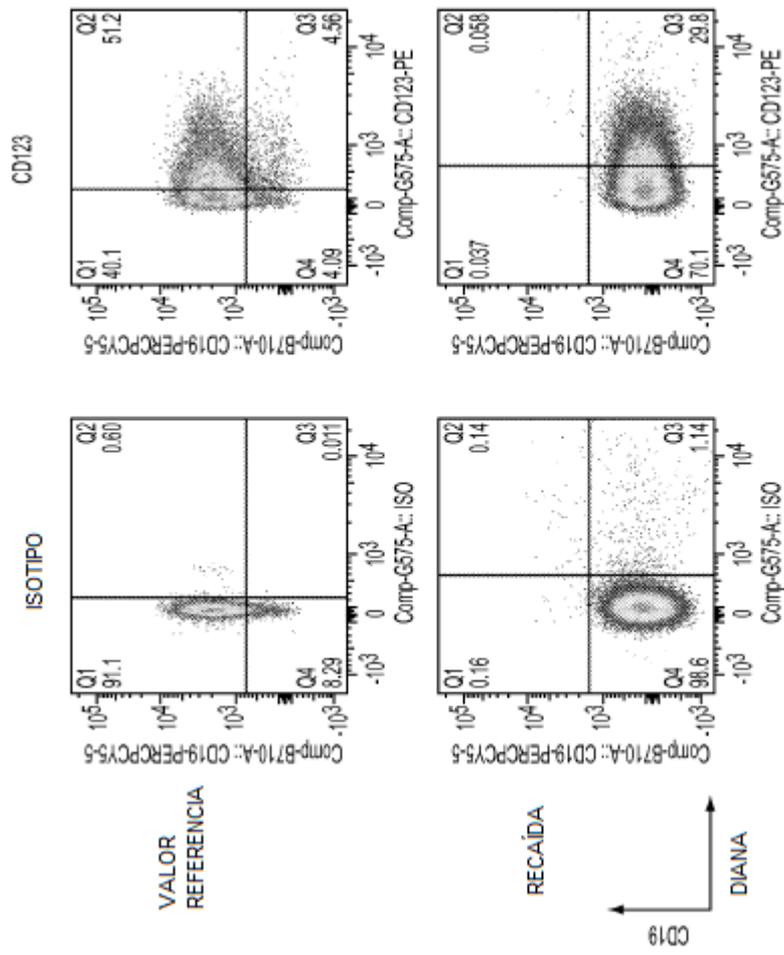


FIG. 19

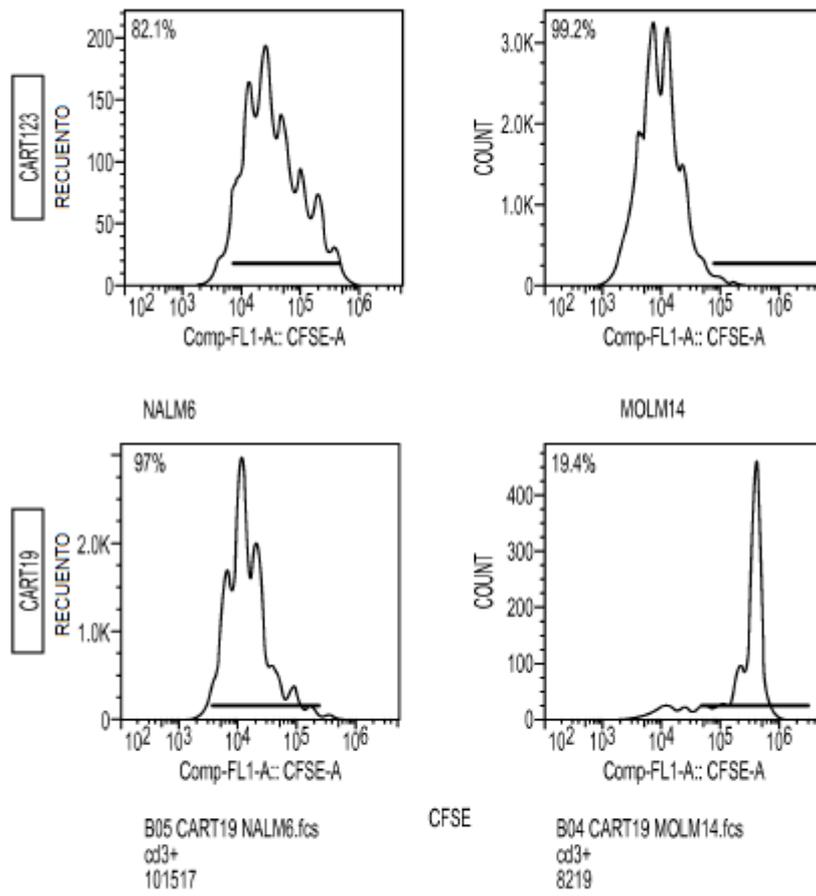


FIG. 20

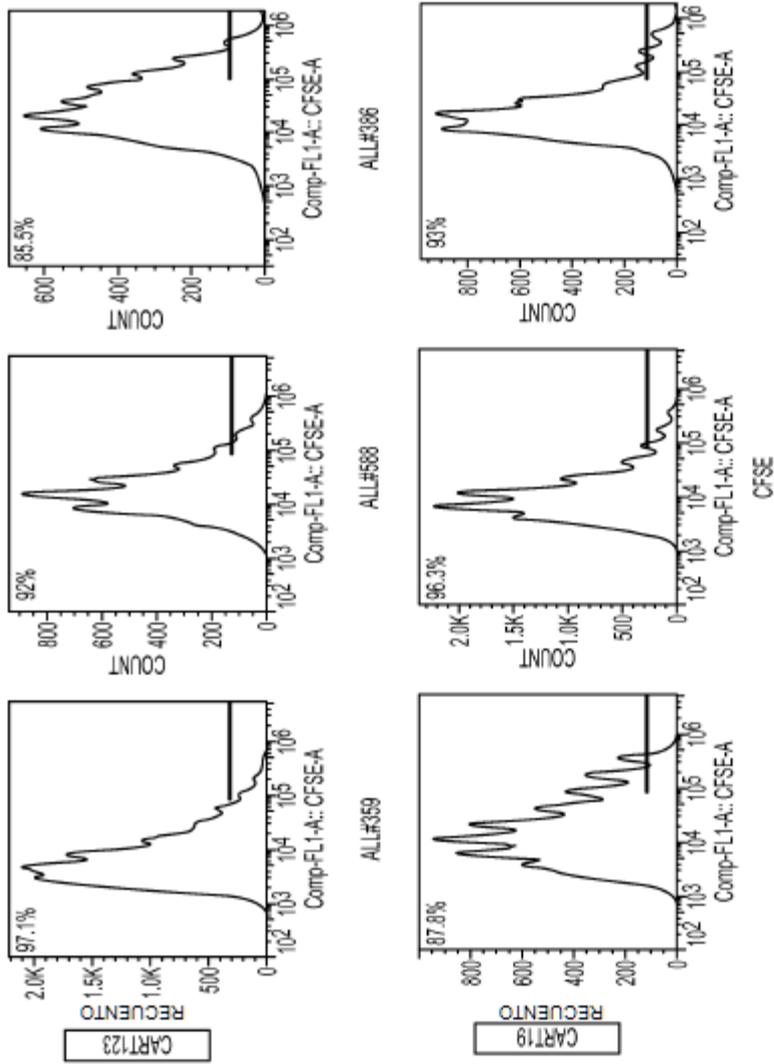


FIG. 21

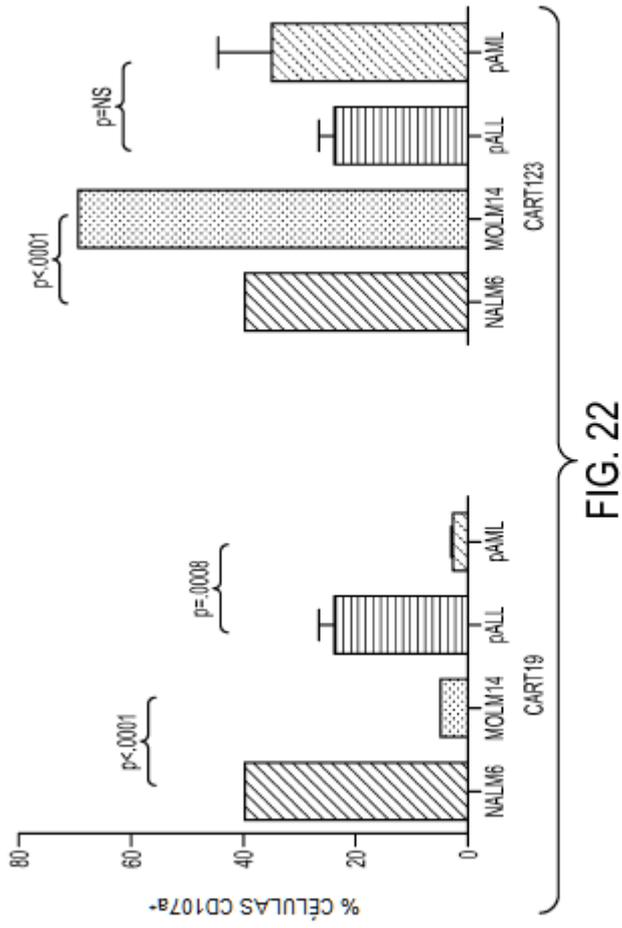


FIG. 22

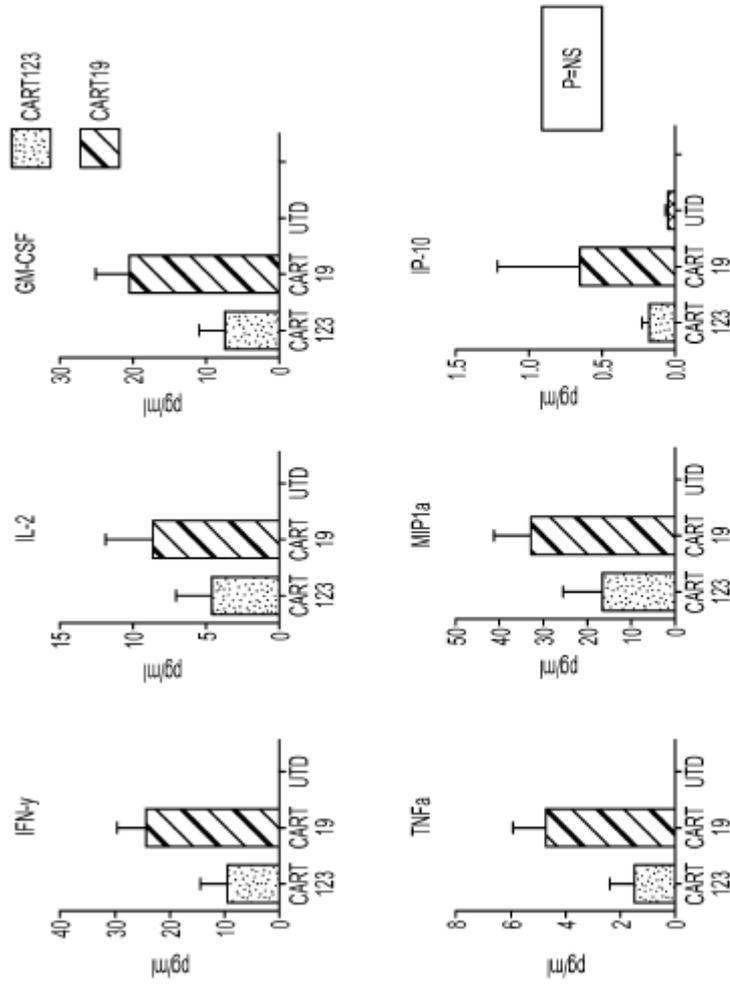


FIG. 23

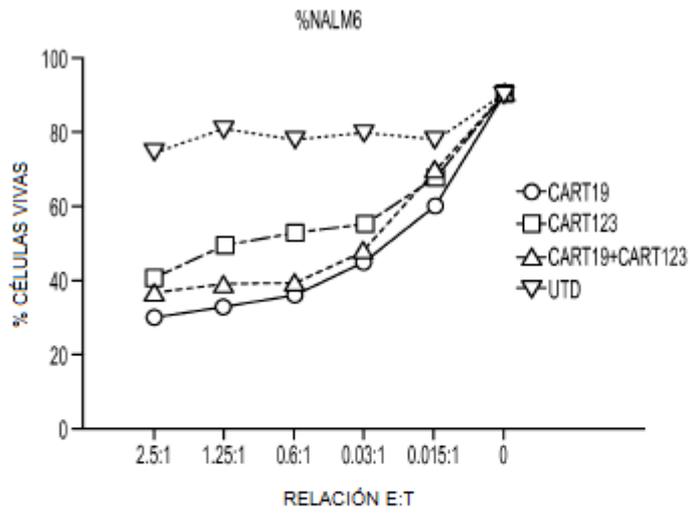


FIG. 24

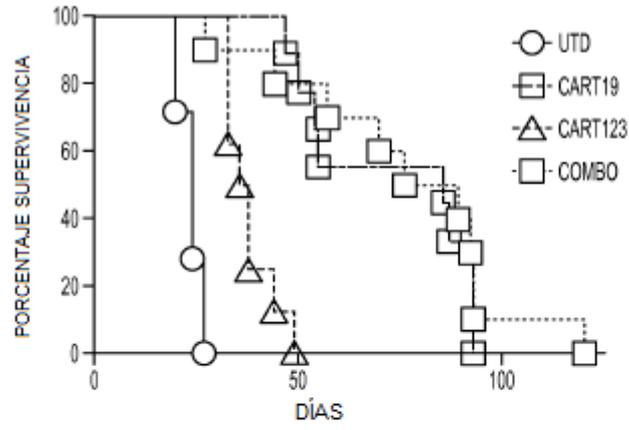


FIG. 25

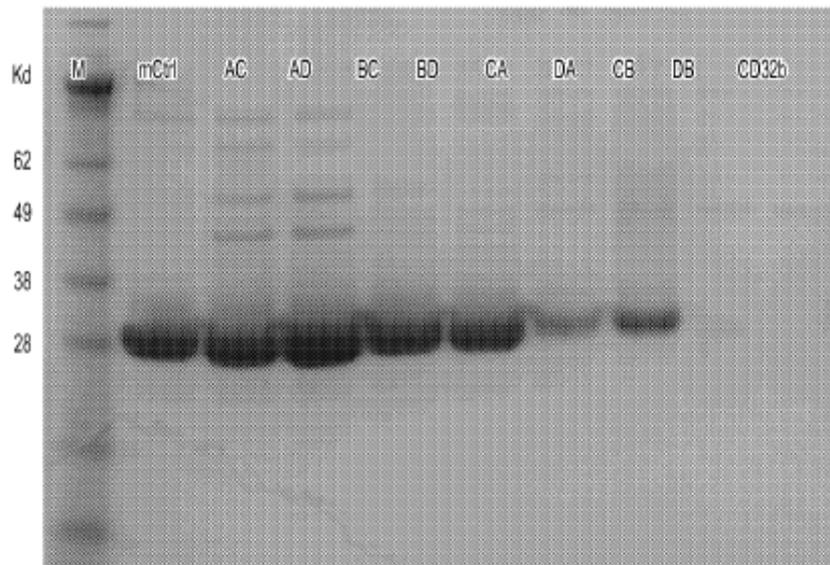


FIG. 28

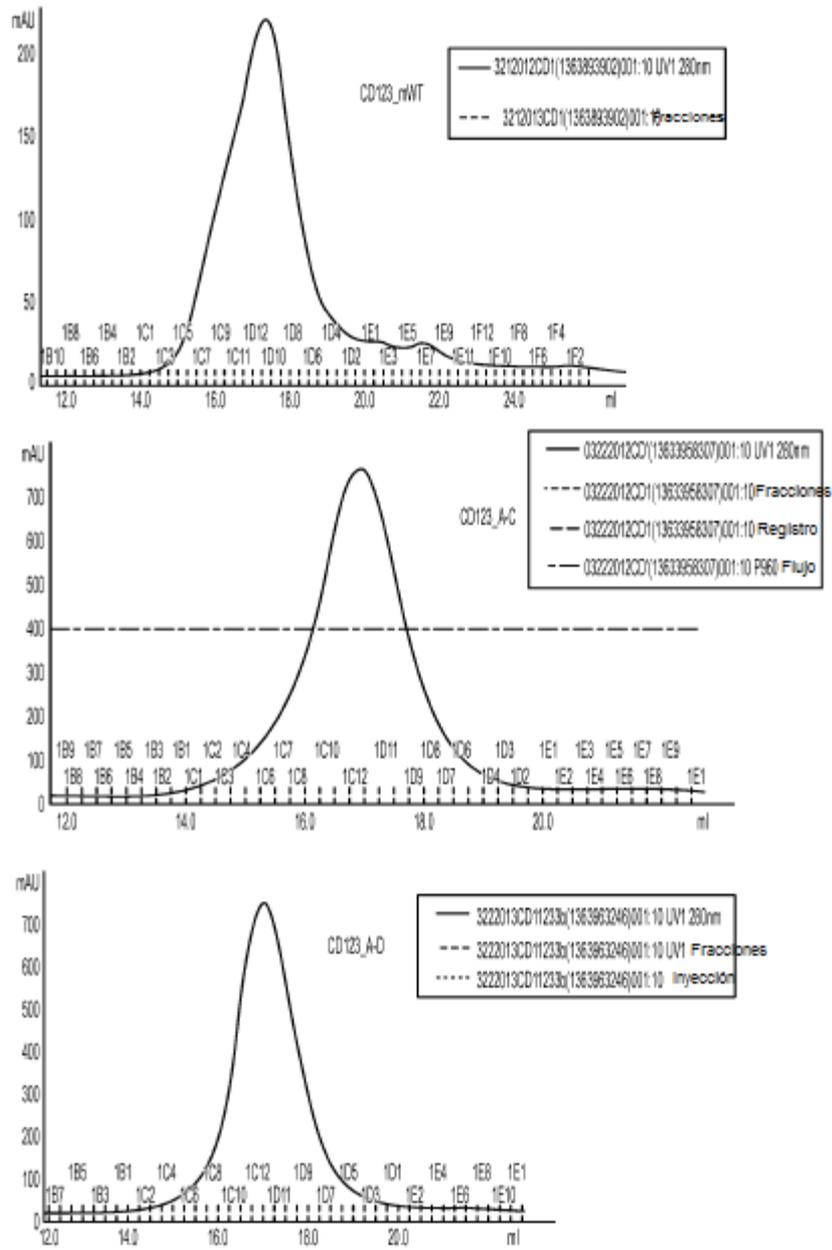


FIG. 29A

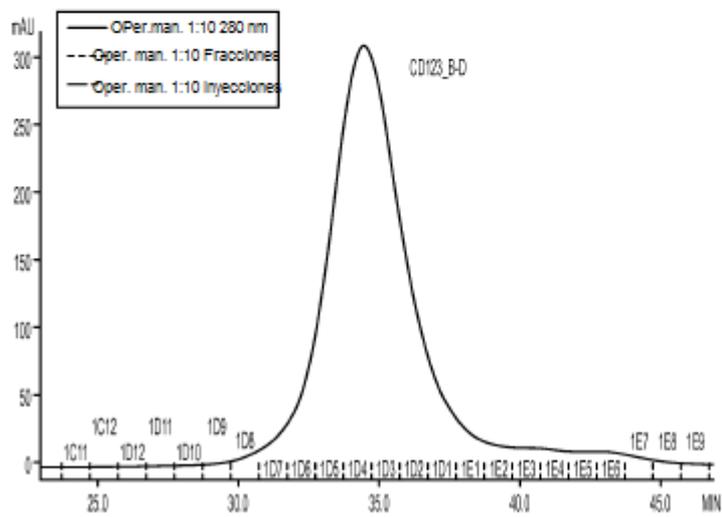
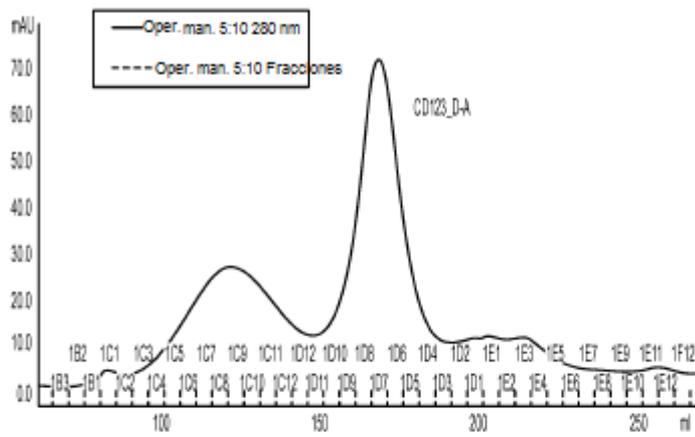
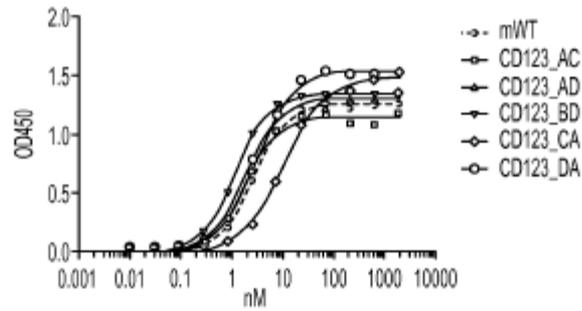


FIG. 29B

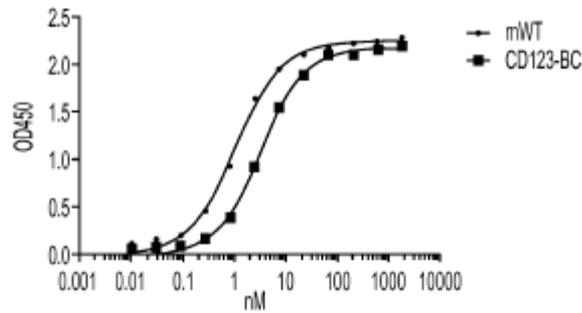
UNIÓN A CD123 INMOVILIZADA



	mWT	CD123_AC	CD123_AD	CD123_BD	CD123_CA	CD123_DA
Kd	2.561	1.831	1.768	1.116	10.19	2.797

FIG. 30A

UNIÓN A CD123 INMOVILIZADA



	mWT	CD123_BC
Kd	1.039	3.253

FIG. 30B

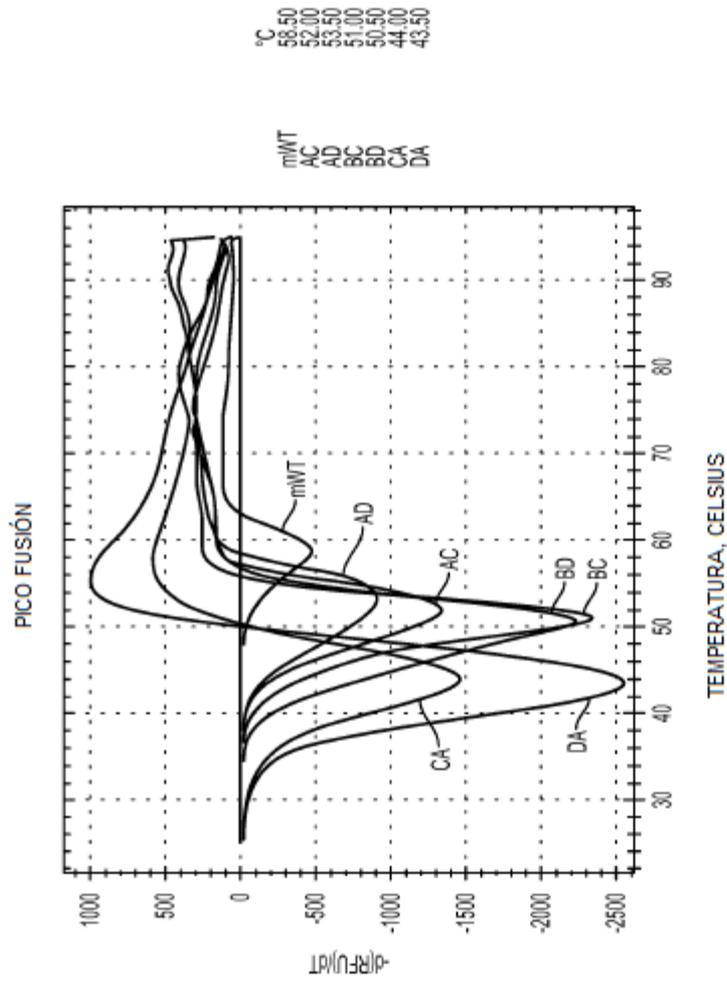


FIG. 31

EXPRESSION DE CAR EN SUPERFICIE

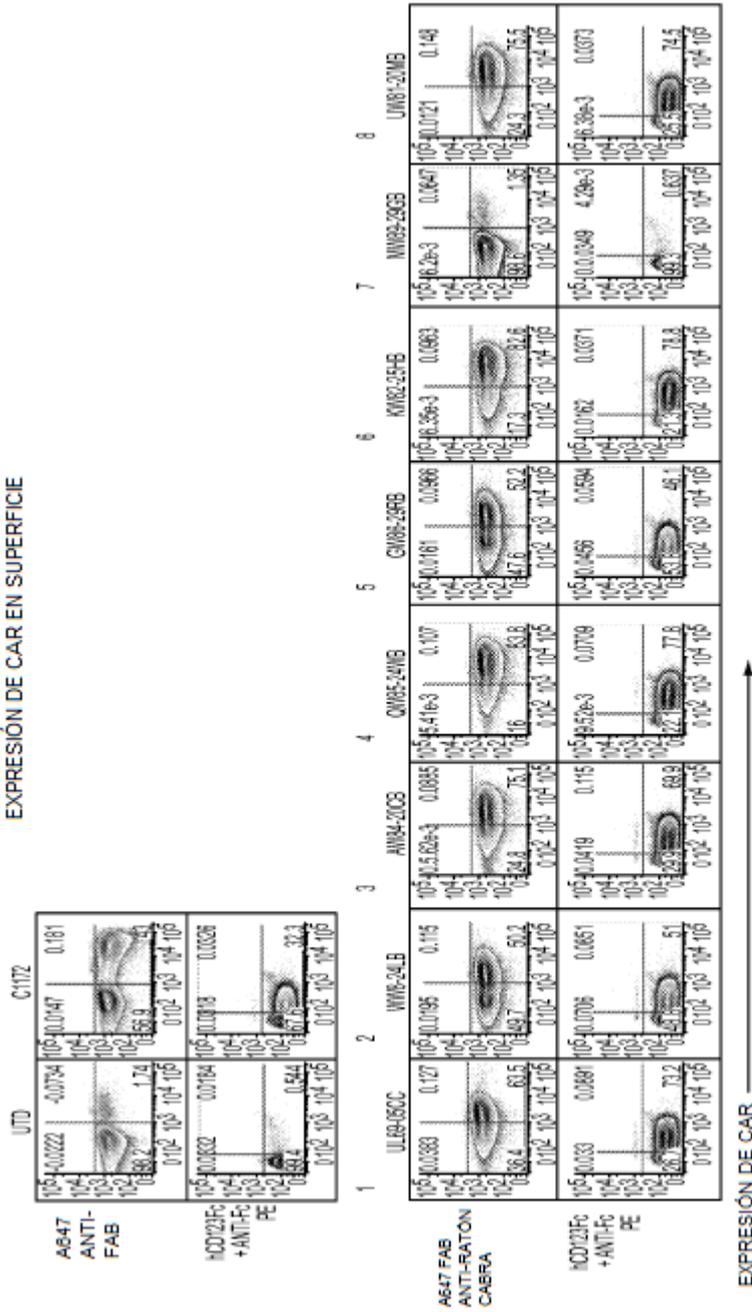


FIG. 32

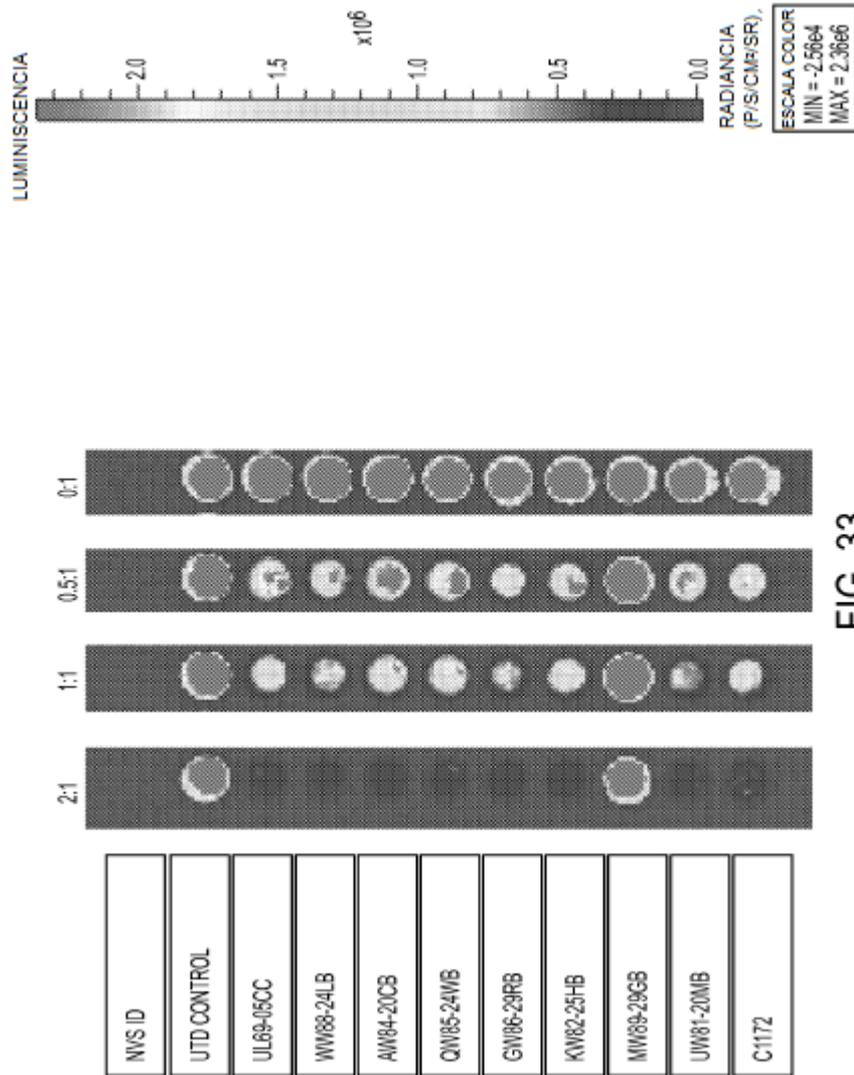


FIG. 33

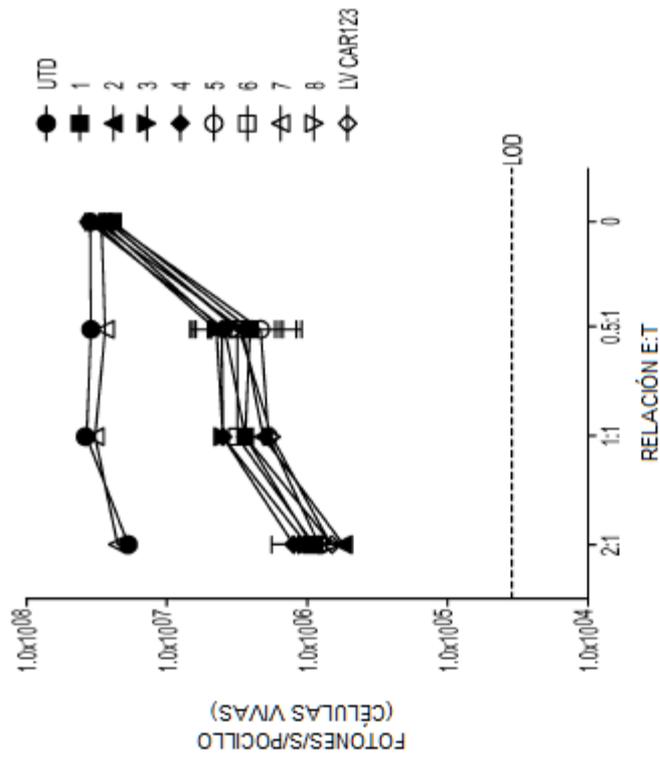


FIG. 34

UTD	NVS ID
1	UI69-050C
2	VW88-24LB
3	AW84-20CB
4	QW85-24WB
5	GW86-28RB
6	KW82-25HB
7	MW89-29GB
8	UW81-20MB
C1172	N/A

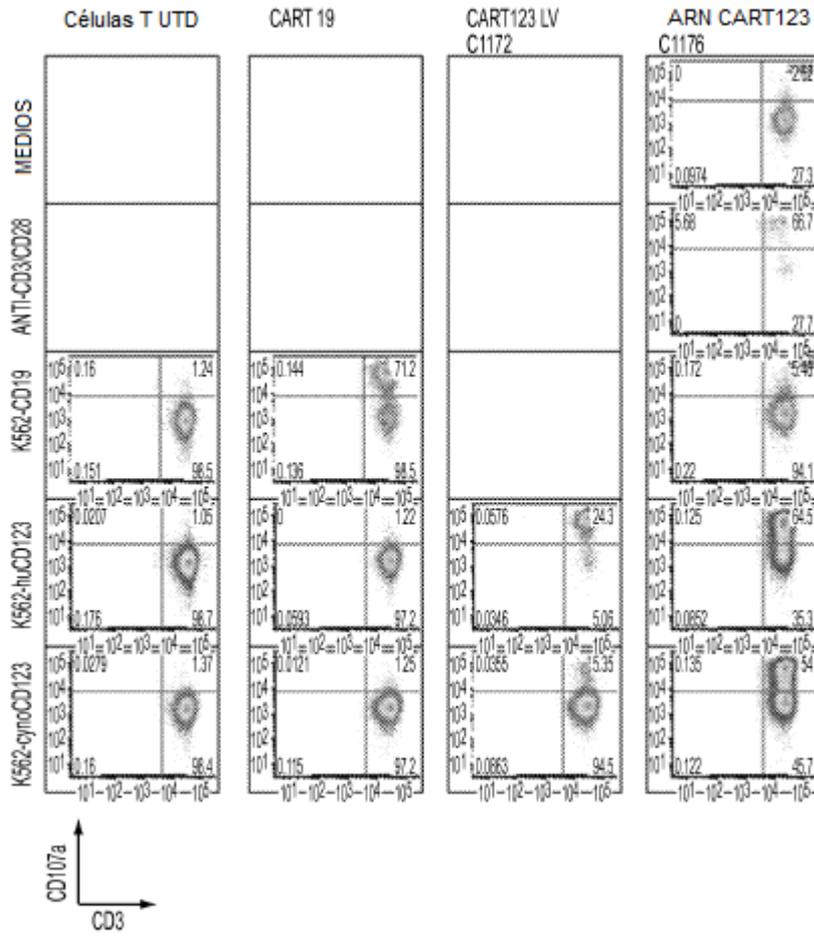
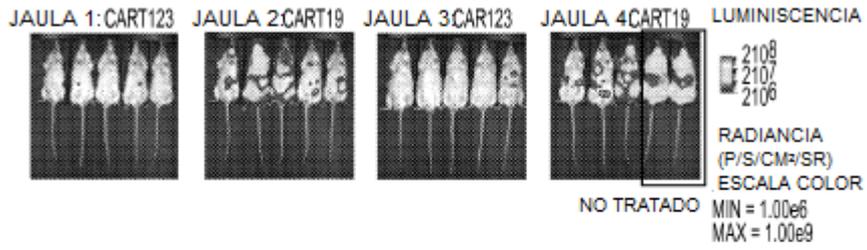


FIG. 35

FORMACIÓN DE IMÁGENES DÍA 21



FORMACIÓN DE IMÁGENES DÍA 28

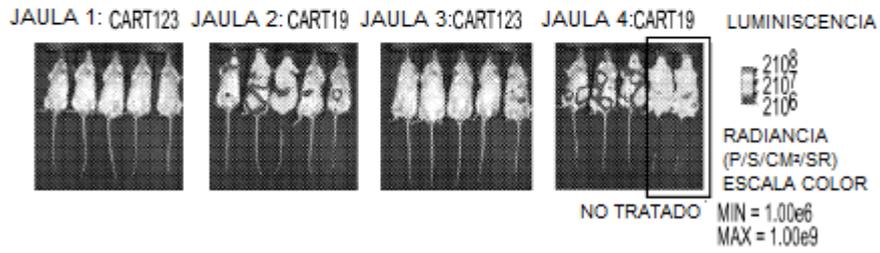


FIG. 36

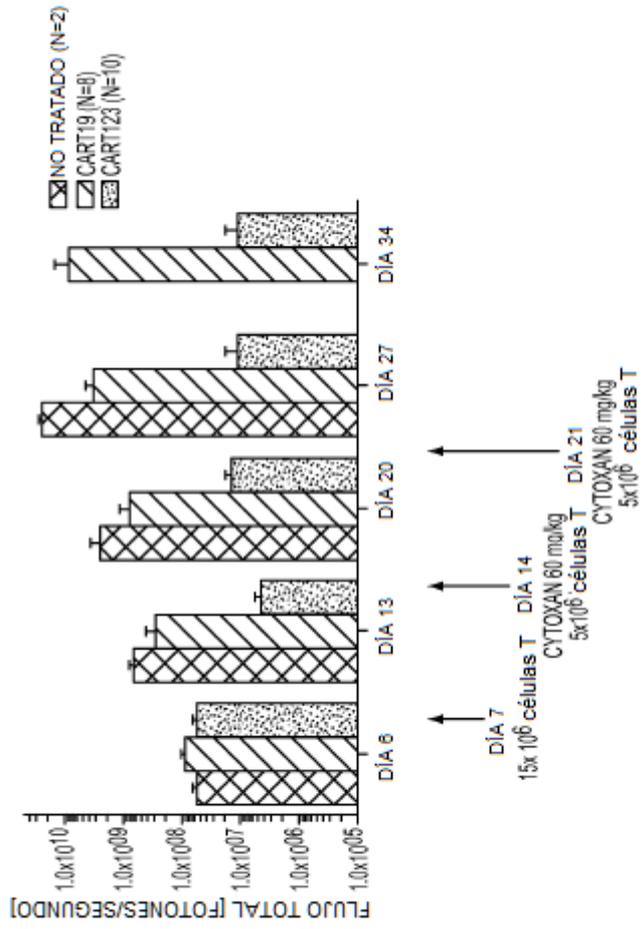


FIG. 37

