

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 971 981**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/12 (2006.01)

C07K 14/25 (2006.01)

A61K 47/68 (2007.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.01.2018 PCT/US2018/014942**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.08.2018 WO18140427**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2018 E 18708500 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2023 EP 3573648**

54 Título: **Moléculas de reconocimiento de células que comprenden efectores de la subunidad A de la toxina Shiga desimmunizados y epítopos de células T CD8+**

30 Prioridad:
25.01.2017 US 201762450506 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.06.2024

73 Titular/es:
**MOLECULAR TEMPLATES, INC. (100.0%)
9301 Amberglen Boulevard Suite 100
Austin, TX 78729, US**

72 Inventor/es:
**POMA, ERIC;
WILLERT, ERIN;
RAJAGOPALAN, SANGEETHA;
ROBINSON, GARRETT LEE;
BRIESCHKE, BRIGITTE y
KIM, JASON**

74 Agente/Representante:
PONTI & PARTNERS, S.L.P.

ES 2 971 981 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

Moléculas de reconocimiento de células que comprenden efectores de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizados y epítomos de células T CD8+

5

CAMPO TÉCNICO

[0001] La presente invención se refiere a una molécula de reconocimiento de células tal como se define en las reivindicaciones que comprende (1) una región de unión para el reconocimiento de células tal como se define en las reivindicaciones, (2) un polipéptido efector de subunidad A de Shiga para suministro subcelular tal como se define en las reivindicaciones y (3) uno o más epítomos de células T CD8+ que son heterólogos para el polipéptido efector de subunidad A de Shiga tal como se define en las reivindicaciones. El componente de polipéptido efector de toxina Shiga de molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende una combinación de mutaciones en relación con una secuencia de toxina Shiga de tipo salvaje que proporciona (1) desinmunización, (2) una reducción de sensibilidad a la proteasa furina y (3) un epítomo(s) de células T, incluido(s); en donde el polipéptido efector de toxina Shiga puede retener una o más funciones de toxina Shiga, tales como, por ejemplo, estimulación de internalización celular, direccionamiento de enrutamiento intracelular y/o citotoxicidad potente. La molécula de reconocimiento celular de la presente invención puede suministrar epítomo de células T CD8+, heterólogo a la vía de presentación de MHC de clase I de una célula diana en donde el epítomo de células T CD8+, heterólogo se une, tanto de manera directa como indirecta, en el extremo carboxi-terminal al extremo carboxi-terminal de una región del fragmento A1 de toxina Shiga del polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga. En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es útil para ser administrada a cordatos, tales como, por ejemplo, cuando se desea (1) reducir o eliminar una(s) determinada(s) respuesta(s) inmune(s) que es(son) el resultado de la molécula administrada, (2) reducir o eliminar toxicidades no específicas que son el resultado de la molécula administrada, (3) destruir de manera específica una célula(s) diana *in vivo* y/o (4) dirigir una respuesta(s) inmune(s) beneficiosa(s) a un tipo de célula diana, una masa tumoral que comprende un tipo de células diana y/o un locus de tejido que comprende un tipo de células diana, tal como a través de estimulación de acoplamiento intercelular de una célula(s) T CD8+ del cordato con el tipo de células diana. La molécula de reconocimiento celular de la presente invención tiene múltiples usos, por ejemplo, en el suministro de un epítomo de células T CD8+ específico desde una localización extracelular a la vía de presentación de MHC de clase I de una célula diana; el marcaje de superficie celular de una célula diana con MHC de clase I que mostraba un epítomo de células T CD8+; la destrucción selectiva de tipos de células específicas en presencia de otras células; la estimulación de respuestas inmunes beneficiosas *in vivo*; la estimulación de una respuesta(s) de linfocitos T citotóxicos a una célula diana; la represión de una respuesta(s) inmune perjudicial *in vivo*; la creación de células de memoria inmunitarias y el tratamiento de una variedad de enfermedades, tales como, por ejemplo, cánceres, tumores, otras anomalías de crecimiento, trastornos inmunitarios e infecciones microbianas.

ANTECEDENTES

[0002] A continuación se incluye la información que puede ser útil en el entendimiento de la presente invención(es) descrita(s) en el presente documento. No se reconoce que cualquier información proporcionada en el presente documento es la técnica anterior o se refiere a la descrita actualmente o reivindicadas por la presente invención(es) o que cualquier publicación o documento al que se hace referencia de manera específica o implícita en el presente documento es la técnica anterior.

45

[0003] El concepto de utilización de la fuerza del sistema inmune para tratar cáncer tiene más de cien años de edad (véase, por ejemplo, Wiemann B, Stames C, *Pharmacol Ther* 64: 529-64 (1994)). Una solicitud anterior del Solicitante US 2016/177284 describe moléculas de reconocimiento celular que comprenden regiones efectoras de subunidad A de toxina Shiga proximales de extremos de amino-terminales o extremo amino-terminal; y Noakes et al., *FEBS LETT* 453: 95-99 (1999) describe el aprovechamiento del transporte retrógrado de toxina 1 similar a shiga para la administración de antígenos exógenos en la vía de presentación de MHC de clase I. En otro ejemplo, William Coley utilizó reacciones de pacientes para desactivar agentes infecciosos para mejorar sus defensas inmunes frente a cánceres. Desencadenando las reacciones inmunes similares a infección, el sistema inmune del paciente se estimula y muestra inmunocontrol mejorado de células cancerígenas, a menudo provocando remisión de enfermedad. Puede que sea posible mejorar este concepto utilizando terapéuticas dirigidas y limitando o focalizando reacciones inmunes a áreas localizadas, tales como, por ejemplo, a través de la especificidad precisa del sistema inmune adaptable. Las terapias dirigidas pueden utilizarse para dirigir células cancerígenas y/o locus de tejido cancerígeno en un paciente para recibir epítomos altamente inmunogénicos, ajenos (por ejemplo, de un agente infeccioso) para activar de manera local un número de respuesta inmunes beneficiosas y para marcar de manera específica células cancerígenas como ajenas utilizando epítomos que son más inmunogénicos que cualquiera ya mostrado por las células cancerígenas en el paciente. Es más, induciendo una imitación de un estado infectado para un gran número de células cancerígenas diana, el sistema inmune del paciente puede convertirse en estimulado de manera sistémica tal como, por ejemplo, incluyendo un aumento en inmunocontrol global y actividad de células inmunes, pero la especificidad precisa del sistema inmune puede limitar o enfocar respuestas inmunes a una ubicación de tejido, tipos de células o incluso un único epítomo(s) ajeno determinados. Este enfoque puede activar el sistema inmune de manera general en un modo sistémico (tal como se muestra con toxinas de Coley, terapias con citocinas, inhibidores de puestos de control

65

inmunitarios y vacunas contra el cáncer) mientras se enfocan las respuestas inmunes a tejidos y células determinadas de un modo localizado (tal como se muestra con terapias de células T modificadas con receptores quiméricos de antígenos (CAR-T) y anticuerpos monoclonales dirigidos a tumores).

5 [0004] El sistema de mayor histocompatibilidad (MHC) de clase I juega un papel esencial en el sistema inmune proporcionando a epítipo una presentación de antígenos intracelulares (Cellular and Molecular Immunology (Abbas A, ed., Saunders, 8ª edición, 2014)). Se piensa que este proceso es una parte importante del sistema inmune adaptable, un sistema que está implicado en cordatos principalmente en la protección contra patógenos intracelulares, así como células malignas que expresan antígenos intracelulares, tales como, por ejemplo, células cancerígenas. Por ejemplo, las infecciones humanas que implican patógenos intracelulares solamente se pueden superar por las acciones combinadas de ambos sistemas de MHC de clase I y clase II (véase, por ejemplo, Chiu C, Openshaw P, Nat Immunol 16: 18-26 (2015)). La contribución del sistema de MHC de clase I es la identificación y la eliminación de células malignas basándose en la identificación de antígenos intracelulares.

15 [0005] El sistema de MHC de clase I funciona en cualquier célula nucleada de un vertebrado para introducir antígenos intracelulares (o endógenos), mientras la vía de MHC de clase II funciona en células presentadoras de antígenos (APCs) para introducir antígenos extracelulares (o exógenos) (Neefjes Jet al., Nat Rev Immunol 11: 823-36 (2011)). Los epítipos intracelulares o «endógenos» que se reconocen por el sistema de MHC de clase I típicamente son fragmentos de moléculas que se encuentran en el citosol o el lumen del retículo endoplasmático (RE) de una célula y estas moléculas típicamente se procesan de manera proteolítica por el proteasoma y/u otra proteasa(s) en el citosol. Cuando están presentes en el RE, estos epítipos endógenos se cargan en las moléculas de MHC de clase I y se introducen en la superficie de la célula como complejos de molécula de péptido-MHC de clase I (pMHC Is). En cambio, el sistema de MHC de clase II funciona solamente en células especializadas para reconocer epítipos exógenos derivados de moléculas que se encuentran en la parte extracelular que se generan solamente en compartimentos endosomales específicos, tales como, por ejemplo, endosomas tardíos, lisosomas, fagosomas y fagolisosomas y que incluyen patógenos intracelulares que residen en orgánulos endocitóticos.

30 [0006] La presentación de epítipos-péptidos en complejo con las moléculas de MHC de clase I por las células nucleadas en cordatos juega un papel importante en la estimulación y la conservación de respuestas inmunes en patógenos intracelulares, tumores y cánceres. La implicación de linfocito T CD8+ intercelular (célula T) de una célula que muestra un complejo de epítipo-MHC de clase I específico por una célula T CD8+ inicia respuestas inmunes protectoras que pueden provocar el rechazo de la célula introducida, es decir, muerte de la célula introducida debido a la actividad citotóxica de uno o más linfocitos T citotóxicos (LTCs). La especificidad de esta implicación intracelular se determina mediante múltiples factores. Las células T CD8+ reconocen pMHC Is en la superficie celular de otra célula a través de sus RCTs. Las células T CD8+ expresan diferentes receptores de células T (RCTs) con diferentes especificidades de unión para diferentes análogos de pMHC Is. La especificidad de la célula T CD8+ depende de cada RCT específico de célula T individual y de la afinidad de unión de RCTs con el complejo de epítipo-MHC introducido, así como de la ocupación de unión de RCT general con la célula introducida. Además, existen diferentes variantes de moléculas de MHC de clase I que influyen sobre el reconocimiento de células T CD8+ de como mínimo dos maneras: afectando la especificidad de péptidos cargados y mostrados (es decir, el conjunto de pMHC I) y afectando las regiones de contacto entre RCTs y pMHC Is implicados en el reconocimiento de epítipos.

45 [0007] La introducción de determinados epítipos en complejo con las moléculas de MHC de clase I puede sensibilizar la célula introducida para la eliminación dirigida mediante lisis, apoptosis inducida y/o necrosis. La eliminación de LTC de células que muestran pMHC I se realiza principalmente a través de las actividades citolíticas mediadas por la administración de perforina y/o granzima en la célula introducida a través de los gránulos citotóxicos (véase, por ejemplo, Russell J, Ley T, Annu Rev Immunol 20: 323-70 (2002); Cullen S, Martin S, Cell Death Diff 15: 251-62 (2008)). Otros mecanismos de eliminación de células diana mediada por LTC implican la introducción de apoptosis en la célula introducida a través de la señalización TNF, tal como, por ejemplo, a través de señalización FasL/Fas y TRAIL/TRAIL-DR (véase, por ejemplo, Topham D et al., J Immunol 159: 5197-200 (1997); Ishikawa E et al., J Virol 79: 7658-63 (2005); Brincks E et al., J Immunol 181: 4918-25 (2008); Cullen S, Martin S, Cell Death Diff 15: 251-62 (2008)). Por consiguiente, los LTCs activados pueden eliminar indiscriminadamente otras células cercanas a la célula que presenta pMHC I, reconocida independientemente de los conjuntos de complejos de péptido-MHC de clase I que se presentan por otras células cercanas (Wiedemann A et al., Proc Natl Acad Sci USA 103: 10985-90 (2006)). Además, los LTCs activados pueden liberar citocinas, interleucinas y otras moléculas inmunoestimuladoras para influir en la activación inmune del microambiente.

60 [0008] Este sistema inmunovigilancia de MHC de clase I y LTC se podría posiblemente utilizar en determinadas terapias para guiar un sistema inmune adaptable de sujeto a rechazar y eliminar de manera específica determinados tipos de células. En particular, la vía de presentación de MHC de clase I se puede utilizar por diferentes moléculas terapéuticas para forzar determinadas células diana a mostrar determinados epítipos en superficies celulares para inducir respuestas inmunes deseadas que incluyen la inmunodetección aumentada y la eliminación de células reconocidas de manera específica por células inmunes. Las moléculas terapéuticas podrían diseñarse para administrar de manera específica epítipos de célula T CD8+ a la vía de MHC de clase I para la presentación de células malignas (por ejemplo, células tumorales o infectadas), para señalar su propia destrucción o, tal vez, inducir en el agregado una estimulación más amplia del sistema inmune. Adicionalmente, las moléculas terapéuticas podrían diseñarse para

estimular o aumentar la actividad de presentación de MHC en células diana.

[0009] Sería deseable tener moléculas de reconocimiento celular capaces, cuando se administran de manera exógena, de administrar un epítipo de célula T CD8+ a la vía de presentación de MHC de clase I de una célula diana elegida, donde se puede elegir el epítipo de una variedad amplia de epítopos, tales como, por ejemplo, entre agentes infecciosos comunes, y se puede elegir la célula diana entre una variedad amplia de células, tales como, por ejemplo, células malignas y/o infectadas, particularmente células distintas a CPAs profesionales, como células dendríticas. Tales moléculas de reconocimiento celular, que reconocen de manera preferencial células malignas por encima de células sanas, se pueden administrar a un cordato en administración *in vivo* de un epítipo de célula T CD8+ para la presentación de MHC de clase I mediante células diana, tales como, por ejemplo, células infectadas, neoplásicas o, en caso contrario, malignas. Además, puede ser deseable en determinadas circunstancias tener tales moléculas de reconocimiento celular, que también eliminan directamente células diana a través de un mecanismo basado en sistema no inmune. Por consiguiente, sería deseable tener tales moléculas de reconocimiento celular que también muestran antigenicidad baja, inmunogenicidad baja, estabilidad alta y/o toxicidad no específica baja después de ser administradas a un cordato.

CARACTERÍSTICAS DE LA PRESENTE INVENCION

[0010] La presente invención se define en las reivindicaciones independientes y las características determinadas opcionales de las mismas se definen en las reivindicaciones dependientes. La información técnica expuesta a continuación puede traspasar el ámbito de la presente invención en algunos aspectos, que se define exclusivamente en las reivindicaciones adjuntas. Se proporciona la información técnica adicional para clasificar la presente invención actual en un contexto técnico más amplio y para ilustrar posibles desarrollos técnicos relacionados. En lo que respecta a los términos «invención», «ejemplo» y «realización» utilizados en el presente documento, estos términos se interpretarán de tal forma que la protección no se extienda más allá del ámbito de las reivindicaciones. Cualquier referencia a los procedimientos de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia y procedimientos de diagnóstico realizados en el cuerpo humano o animal no deben ser interpretados como tales, pero en cambio debería interpretarse como los que hacen referencia a productos, en particular, a sustancia o composiciones para ser utilizados en cualquiera de estos procedimientos.

[0011] La presente invención proporciona una molécula de reconocimiento celular y una composición farmacéutica de la misma tal como se define en las reivindicaciones, en donde la molécula de reconocimiento celular comprende 1) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, 2) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una molécula biológica diana extracelular, en donde la región de unión es heteróloga para el polipéptido efector de toxina Shiga y 3) una carga de epítipo de célula T CD8 heteróloga que no se incrusta o inserta en el polipéptido efector de toxina Shiga, en donde la carga de epítipo de célula T CD8+ se posiciona en el extremo carboxi-terminal con los extremos carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Las realizaciones adicionales de la presente invención se enumeran en las reivindicaciones adjuntas.

[0012] Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la administración de la molécula de reconocimiento celular a una célula puede dar como resultado (i) la internalización de la molécula de reconocimiento celular por la célula y (ii) la presentación de la célula sobre una superficie celular la carga del epítipo de la célula T CD8+ ligada con una molécula de MHC de clase I.

[0013] Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la administración de la molécula de reconocimiento celular a una célula, que está físicamente acoplada a la biomolécula diana extracelular unida a la región de unión de la molécula de reconocimiento celular, puede dar como resultado la presentación de la célula sobre una superficie celular la carga del epítipo de la célula T CD8+ ligada con una molécula de MHC de clase I. En determinadas realizaciones, disponer de o colocar la molécula en presencia de una célula(s) inmune(s) adicionalmente da como resultado una respuesta celular inmune en la implicación trans, intercelular de la célula por la célula inmune (por ejemplo, un linfocito T citotóxico) y/o muerte de la célula inducida mediante una acción(es) intercelular(es) de una célula inmune.

[0014] Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la administración de la molécula de reconocimiento celular a un cordato, que comprende células físicamente acopladas a la biomolécula diana extracelular unida por la región de unión de la molécula de reconocimiento celular, puede dar como resultado en como mínimo algunas de dichas células presentes sobre una superficie celular la carga del epítipo de la célula T CD8+ ligada con una molécula de MHC de clase I. En determinadas realizaciones adicionales, los resultados indican adicionalmente una respuesta celular inmune en implicación trans, tal como, por ejemplo, intercelular de como mínimo algunas de dichas células por una célula inmune y/o muerte de la célula inducida mediante acción(es) intercelular(es) de una célula inmune (por ejemplo, un linfocito T citotóxico).

[0015] La molécula de reconocimiento celular de la presente invención se puede utilizar en la administración dirigida de diferentes epítopos de célula T CD8+ a cualquier célula nucleada, diana en un cordato para provocar la presencia de la carga de epítipo de célula T CD8+ administrada sobre la superficie celular en complejo con una molécula de MHC de clase I. Las células diana pueden ser de varios tipos, tales como, por ejemplo, células neoplásicas, células

infectadas, células que albergan patógenos intracelulares y otras células indeseadas, y se puede dirigir la célula diana mediante la molécula de reconocimiento celular de la presente invención tanto *in vitro* como *in vivo*. Adicionalmente, la presente invención da a conocer una molécula de reconocimiento celular que comprende un polipéptido efector de toxina Shiga resistente a la escisión por proteasa, tal como se define en las reivindicaciones, que puede ser capaz de administrar epítomos de células T CD8+ heterólogos de manera intracelular a las vías de presentación de MHC de clase I de células diana, mientras mejora la tolerabilidad extracelular, *in vivo* de la molécula de reconocimiento celular simultáneamente. Por consiguiente, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención posee utilidad mejorada para ser administrada a cordatos tanto como un agente terapéutico como/o diagnóstico de la similitud reducida de probabilidad de generar toxicidades no específicas a una dosis determinada.

[0016] En determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la carga del epítomo de célula T CD8+ se fusiona, tanto directamente como indirectamente, con el polipéptido efector de la subunidad A de toxina Shiga y/o la región de unión. En determinadas realizaciones adicionales de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la carga del epítomo de célula T CD8+ se fusiona a través del enlace de péptido, tanto directamente como indirectamente, con el polipéptido efector de la subunidad A de toxina Shiga y/o la región de unión. En determinadas realizaciones adicionales, la carga del epítomo de célula T CD8+ se fusiona a través del enlace de péptido, tanto directamente como indirectamente, con el polipéptido efector de la subunidad A de toxina Shiga y/o la región de unión como una fusión genética.

[0017] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende un polipéptido que comprende la región de unión, el polipéptido efector de toxina Shiga y la carga del epítomo de célula T CD8+.

[0018] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende la región de unión que comprende dos o más cadenas de polipéptidos y la carga del epítomo de célula T CD8+ se fusiona con un polipéptido que comprende el polipéptido efector de toxina Shiga y una de las dos o más cadenas de polipéptidos, tal como se expone en las reivindicaciones.

[0019] Tal como se define en las reivindicaciones, en la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la carga del epítomo de célula T CD8+ se posiciona en el extremo carboxi-terminal con los extremos carboxi terminales del polipéptido efector de toxina Shiga.

[0020] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende una fracción molecular asociada al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular comprende la región de unión.

[0021] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende una fracción molecular asociada al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga en donde la fracción molecular es citotóxica.

[0022] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende una fracción molecular que comprende como mínimo un aminoácido y el polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga unido a como mínimo un residuo de aminoácido de la fracción molecular. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular y el polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga se fusionan para formar un polipéptido continuo.

[0023] Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, el polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga es capaz de mostrar una o más funciones efectoras de toxina Shiga además de la administración de la carga del epítomo de célula T CD8+ a una molécula de MHC de clase I de la célula. Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, el polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga es capaz de mostrar una o más funciones efectoras de toxina Shiga además de la administración de la carga del epítomo de célula T CD8+ de un compartimento endosómico de una célula en la que está presente un polipéptido efector de toxina Shiga a una molécula de MHC de clase I de la célula.

[0024] Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, el polipéptido efector de subunidad A de toxina Shiga es capaz de mostrar una actividad de inhibición de ribosoma con un valor de la media de la concentración inhibitoria máxima (IC₅₀) de 10.000 picomolares o inferior.

[0025] A continuación se describen diferentes moléculas de reconocimiento celular con referencia a los números #1-20.

Conjunto de realizaciones #1

[0026] La presente invención proporciona una molécula de reconocimiento celular tal como se define en las reivindicaciones, que comprender (i) una polipéptido efector de toxina Shiga que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 30; (ii) una región de unión capaz de unir de manera específica una biomolécula diana extracelular, en donde la región de unión es heteróloga, al polipéptido efector de toxina Shiga; y (iii) una carga de epítipo de célula T CD8 heteróloga que no se incrusta o inserta en el polipéptido efector de toxina Shiga, en donde la carga de epítipo de célula T CD8+ se posiciona en el extremo carboxi-terminal con los extremos carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Para realizaciones determinadas adicionales, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir la función de ribosoma, desactivar de manera enzimática una ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. El epítipo de célula T, heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano. Para determinadas realizaciones adicionales, el epítipo de célula T, heterólogo es capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T incluido o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular. Para determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, mostrar una citotoxicidad comparable o mejor a una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una molécula de reconocimiento celular secundaria que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje.

[0027] Para realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.

[0028] Para realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad y/o estabilidad mejorada *in vivo* en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una molécula de reconocimiento celular secundaria que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1.

[0029] En determinadas realizaciones, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se juntan, tanto directamente como indirectamente.

[0030] En determinadas realizaciones, la región de unión comprende un polipéptido que comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión que comprende un polipéptido se selecciona entre el grupo que consiste en: un dominio V_H autónomo, un fragmento de anticuerpo con dominio único (sdAb), un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un camélido (fragmento de dominio V_HH o V_H), un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un pez cartilaginoso (fragmento de dominio V_HH o V_H), un receptor de antígeno nuevo de inmunoglobulina (IgNAR), un fragmento V_{NAR}, un fragmento variable de cadena única (scFv), un fragmento variable de anticuerpo (Fv), un fragmento de región 3 determinante complementaria (CDR3), un polipéptido de FR3-CDR3-FR4 limitado (FR3-CDR3-FR4), un fragmento Fd, un fragmento de unión a antígeno (Fab), un polipéptido de repetición Armadillo (ArmRP), 10 dominio de fibronectina de tipo III derivado de fibronectina (10Fn3), un dominio de tenascina de tipo III (TNfn3), un dominio de diseño de repetición de anquirina, un dominio A derivado de receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR-A), una lipocalina (anticalina), un dominio de Kunitz, un dominio Z derivado de la proteína A, un dominio derivado de cristalina B gamma, un dominio derivado de ubiquitina (afilina), un polipéptido derivado de Sac7d (aftina), un dominio SH2 derivado de Fyn, una miniproteína, un andamiaje de dominio similar a lectina de tipo C y cualquier equivalente genéticamente manipulado de cualquiera de los anteriores que retiene la funcionalidad de unión, tal como, por ejemplo, en donde la orientación relativa u orden de las cadenas pesada y ligera se invierte o se le da la vuelta.

[0031] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz de mostrar (i) un nivel de actividad catalítica comparable con un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje o un polipéptido efector de toxina Shiga, (ii) una actividad de inhibición de ribosoma con un valor de la media de la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) de 10.000 picomolares o inferior y/o (iii) un nivel importante de actividad catalítica de toxina Shiga.

[0032] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención y/o su polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar eficiencia de recorrido subcelular en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje o polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje y/o es capaz de mostrar un nivel importante de actividad de recorrido intracelular para el retículo endoplasmático y/o el citosol desde una ubicación inicial endosómica de la una célula.

[0033] Para determinadas realizaciones, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una célula está acompañada físicamente por la biomolécula diana extracelular de la región de unión de molécula de reconocimiento celular, la molécula de reconocimiento celular es capaz de causar

muerte de la célula. En determinadas realizaciones adicionales, la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a dos poblaciones diferentes de tipos de células que se difieren en lo que respecta a la presencia o el nivel de la biomolécula diana extracelular, la molécula de reconocimiento celular es capaz de causar muerte celular a tipos de células acopladas físicamente a una biomolécula diana extracelular de la región de unión de molécula de reconocimiento celular a una concentración de CD_{50} de como mínimo tres veces o inferior a la CD_{50} para los tipos de células, que no se acoplan de manera física a una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular. Para realizaciones determinadas, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una primera población de células cuyos miembros se acoplan físicamente a biomoléculas diana extracelulares de la región de unión de molécula de reconocimiento celular y una segunda población de células cuyos miembros no se acoplan físicamente a ninguna biomolécula diana extracelular de la región de unión, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular para los miembros de dicha primera población de células que tienen relación con los miembros de dicha segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor. Para realizaciones determinadas, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una primera población de células cuyos miembros se acoplan físicamente a una cantidad importante de las biomoléculas diana extracelulares de la región de unión de molécula de reconocimiento celular y una segunda población de células cuyos miembros no se acoplan físicamente a una cantidad importante de biomoléculas diana extracelulares de la región de unión, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular para los miembros de dicha primera población de células que tienen relación con los miembros de dicha segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor. Para realizaciones determinadas, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una primera población de células positivas de biomolécula diana y una segunda población de células cuyos miembros no expresan una cantidad importante de biomoléculas diana de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular en una superficie celular, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular para los miembros de la primera población de células que tienen relación con los miembros de la segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor.

[0034] Para realizaciones determinadas la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad con un valor de la media de la concentración inhibitoria máxima (CD_{50}) de 300 nM o inferior y/o es capaz de mostrar un nivel importante de citotoxicidad de toxina Shiga.

[0035] Para realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz de administrar un epítipo de célula T $CD8^+$ heterólogo a una vía de presentación de MHC de clase I de una célula para la presentación en la superficie celular del epítipo unido por una molécula de MHC de clase I.

[0036] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular asociada al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones, la fracción molecular comprende o consiste en la región de unión. En determinadas realizaciones, la fracción molecular comprende como mínimo un aminoácido y el polipéptido efector de toxina Shiga se une a como mínimo un residuo de aminoácido de la fracción molecular. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular y el polipéptido efector de toxina Shiga se fusionan para formar un polipéptido continuo.

[0037] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular comprende adicionalmente una fracción molecular citotóxica asociada al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas realizaciones, la fracción molecular citotóxica es un agente citotóxico, tal como, por ejemplo, un agente quimioterapéutico de molécula pequeña, un agente antineoplásico, un antibiótico citotóxico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor de topoisomerasa y/o un inhibidor de tubulina que un experto conoce y/o se describen en el presente documento. Para determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular citotóxica es citotóxica a concentraciones inferiores a 10.000, 5.000, 1.000, 500 o 200 pM.

[0038] En determinadas realizaciones, la región de unión es capaz de unirse a una biomolécula diana extracelular seleccionada entre el grupo que consiste en: $CD20$, $CD22$, $CD40$, $CD74$, $CD79$, $CD25$, $CD30$, $HER2/neu/ErbB2$, $EGFR$, $EpCAM$, $EphB2$, antígeno de membrana específico de próstata, Cripto, $CDCP1$, endoglina/ $CD105$, proteína de activación de fibroblasto, Lewis-Y, $CD19$, $CD21$, $CS1/SLAMF7$, $CD33$, $CD52$, $CD133$, $gpA33$, mucina, TAG-72, receptor de transmembrana de proteína tirosina cinasa ($ROR1$ or $NTRKR1$), anhidrasa carbónica IX, proteína de unión a folato, gangliósido $GD2$, gangliósido $GD3$, gangliósido $GM2$, gangliósido Lewis-Y2, $VEGFR$, Alfa $Vbeta3$, Alfa5beta1, $ErbB1/EGFR$, $Erb3$, c-MET, $IGF1R$, $EphA3$, $TRAIL-R1$, $TRAIL-R2$, $RANK$, tenascina, $CD64$, mesotelina, $BRCA1$, $MART-1/MelanA$, $gp100$, tirosinasa, $TRP-1$, $TRP-2$, $MAGE-1$, $MAGE-3$, $GAGE-1/2$, $BAGE$, $RAGE$, $NY-ESO-1$, $CDK-4$, beta-catenina, $MUM-1$, caspasa-8, $KIAA0205$, $HPVE6$, $SART-1$, $PRAME$, antígeno carcinoembrionario, antígeno específico de próstata, antígeno de células madre de próstata, beta-hidroxilasa de aspartilo humano (asparaginilo), $EphA2$, $HER3/ErbB-3$, $MUC1$, antígeno asociado a tirosinasa, $HPV-E7$, antígeno del virus de Epstein-Barr, $Bcr-Abl$, antígeno de alfa-fetoproteína, 17-A1, antígeno de tumor de vejiga, $SAIL$, $CD38$, $CD15$, $CD23$, $CD45$ (receptor de proteína tirosina fosfatasa del tipo C), $CD53$, $CD88$, $CD129$, $CD183$, $CD191$, $CD193$, $CD244$, $CD294$, $CD305$, $C3AR$, $FcεR1a$, galectina-9, $IL-1R$ (receptor de interleucina-1), $mrp-14$, ligando de $NKG2D$, ligando 1 de muerte programada ($PD-L1$), $Siglec-8$, $Siglec-10$, $CD49d$, $CD13$, $CD44$, $CD54$, $CD63$, $CD69$, $CD123$, $TLR4$, IgE , $CD107a$, $CD203c$, $CD14$, $CD68$, $CD80$, $CD86$, $CD115$, $F4/80$, $ILT-3$, galectina-3, $CD11a-c$, $GITRL$, molécula de MHC de clase I, molécula de MHC de clase II (opcionalmente en complejo con un péptido), $CD284$ ($TLR4$), $CD107-Mac3$, $CD195$ ($CCR5$), $HLA-$

DR, CD 16/32, CD282 (TLR2), CD11c y cualquier fragmento inmunogénico de cualquiera de los anteriores.

[0039] En determinadas realizaciones, la región de unión se une, tanto directamente como indirectamente, al polipéptido efector de toxina Shiga mediante como mínimo un enlace covalente que no es un enlace de disulfuro. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión se fusiona, tanto directamente como indirectamente, con el extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga para formar un polipéptido único, continuo. En determinadas realizaciones, la región de unión es una región de unión de tipo inmunoglobulina.

[0040] El polipéptido efector de toxina Shiga definido en las reivindicaciones que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 comprende un diseño de escisión por furina alterado.

[0041] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad comparable a una citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una molécula de reconocimiento celular secundaria que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje.

[0042] En determinadas realizaciones, la región de unión comprende el péptido o el polipéptido mostrado en cualquiera de SEQ ID NOs: 39-245.

[0043] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende o consiste en el polipéptido mostrado en cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407, 420-421, 425-429, 459-473 y 656, tal como se enumera en las reivindicaciones; o el polipéptido de cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407 y 656, que comprende adicionalmente un residuo de metionina del extremo amino terminal.

[0044] En determinadas realizaciones, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.

[0045] En determinadas realizaciones, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular comprende la región de unión.

[0046] En realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende una región de unión y/o fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6, kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.

[0047] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión de como mínimo 4,5 kDa, 6, kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).

[0048] En determinadas realizaciones, la región de unión se comprende en una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6, kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

[0049] En determinadas realizaciones, el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en y/o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una tercera molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la tercera molécula de reconocimiento celular. Para determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención muestra citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la citotoxicidad de la tercera molécula de reconocimiento celular. Para determinadas realizaciones adicionales, la citotoxicidad de la molécula de

reconocimiento celular de la presente invención para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la tercera molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀. En determinadas realizaciones adicionales, la tercera molécula de reconocimiento celular no comprende ningún extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/modelo de señal de recuperación de la familia KDEL.

[0050] En determinadas realizaciones, el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en y/o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una tercera molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o es próximo al extremo amino terminal de la tercera molécula de reconocimiento celular. En determinadas realizaciones adicionales, la tercera molécula de reconocimiento celular no comprende ningún extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/modelo de señal de recuperación de la familia KDEL.

[0051] En determinadas realizaciones, el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en y/o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) muestra baja potencia de citotoxicidad (es decir, no es capaz, cuando se introduce en determinados tipos de células diana positivas de mostrar una citotoxicidad mayor al 1% de muerte celular de una población de células a una concentración de molécula de reconocimiento celular de 1000 nM, 500nM, 100 nM, 75 nM o 50 nM) y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor de un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una tercera molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o se encuentra próximo al extremo amino terminal de la tercera molécula de reconocimiento celular. En determinadas realizaciones adicionales, la tercera molécula de reconocimiento celular no comprende ningún extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/modelo de señal de recuperación de la familia KDEL.

[0052] La molécula de reconocimiento celular de la presente invención o un componente de polipéptido de la misma, puede comprender un extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/ diseño de señal de recuperación de un miembro de la familia KDEL. La retención de retículo endoplasmático/ diseño de señal de recuperación del extremo carboxi terminal se puede seleccionar entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797). La molécula de reconocimiento celular de la presente invención puede ser capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una cuarta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a la excepción de que no comprende ningún extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/ diseño de señal de recuperación de la familia KDEL. La molécula de reconocimiento celular de la presente invención puede ser capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con una molécula

de referencia, tal como, por ejemplo, la cuarta molécula de reconocimiento celular. La citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior a la citotoxicidad de la cuarta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

Conjunto #2 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un motivo de señal de retención/recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal y un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo

[0053] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o integrado, heterólogo; y (iii) un diseño de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (a) una región de unión capaz de unirse de manera específica a como mínimo una biomolécula diana extracelular; (b) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo integrado o incluido, heterólogo; y (c) un motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano. Para determinadas realizaciones adicionales, el epítipo de célula T, heterólogo es capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T incluido o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular.

[0054] En determinadas moléculas del Conjunto #2, el motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se selecciona del grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797).

[0055] En determinadas moléculas del Conjunto #2, el epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo altera la región del epítipo de célula B y/o célula T, endógeno seleccionado entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situado originalmente que consiste en: (i) 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1- 2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; y (iii) 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOS: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6, o una región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

[0056] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #2, el epítipo heterólogo es un epítipo de célula T CD8+ capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo heterólogo se integra y reemplaza un número equivalente de residuos de aminoácidos en una región del polipéptido de toxina Shiga de tipo salvaje, de tal modo que el polipéptido efector de toxina Shiga tiene el mismo número total de residuos de aminoácidos como la región de polipéptido de toxina Shiga del tipo salvaje de la que deriva. En determinadas moléculas adicionales de cualquiera de las anteriores, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga seleccionada entre:

dirigir el recorrido intracelular a un citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma y citotoxicidad.

5 [0057] En determinadas moléculas del Conjunto #2, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una quinta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a la excepción de que no comprende ningún diseño de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la citotoxicidad de la quinta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la quinta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

15 [0058] Para determinadas moléculas del Conjunto #2, la molécula de reconocimiento celular es capaz de administrar un epítipo de célula T CD8+ integrado o incluido, heterólogo a una vía de presentación de MHC de clase I de una célula para la presentación en la superficie celular del epítipo unido por una molécula de MHC de clase I.

20 [0059] En determinadas moléculas del Conjunto #2, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido al epítipo integrado o incluido, heterólogo. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una sexta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de su carencia de uno o más epítopos integrados o incluidos presentes en la molécula de reconocimiento celular.

25 [0060] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #2, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la quinta molécula de reconocimiento celular.

Conjunto #3 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende (i) un epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo y (ii) un motivo de escisión por furina, alterado

35 [0061] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o integrado, heterólogo; y (iii) un diseño de escisión por furina alterado. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende (a) un epítipo incluido o integrado, heterólogo; (b) un fragmento A1 de toxina Shiga derivado de una región que tiene un extremo carboxi terminal; y (c) un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano. Para determinadas realizaciones adicionales, el epítipo de célula T, heterólogo es capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la presente invención, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T incluido o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, mostrar una citotoxicidad comparable o mejor a una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una segunda molécula del reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, que comprende un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.

60 [0062] En determinadas moléculas del Conjunto #3, el epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo altera la región del epítipo de célula B y/o célula T, endógeno seleccionado entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situado originalmente que consiste en: (i) 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de

5 cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1- 2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; y (iii) 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6, o una región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

10 [0063] En determinadas moléculas del Conjunto #3, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18); o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínima del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R- x-x-R.

20 [0064] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.

25 [0065] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.

[0066] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la fracción molecular comprende la región de unión.

30 [0067] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.

35 [0068] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6, kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).

40 [0069] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la región de unión está formada por una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

50 [0070] En determinadas moléculas del Conjunto #3, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas moléculas de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.

55 [0071] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad comparable con la citotoxicidad de una séptima molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que se encuentra en el intervalo desde 0,1 veces, 0,5 veces o 0,75 veces hasta 1,2 veces, 1,5 veces, 1,75 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces o 5 veces de la citotoxicidad mostrada por la séptima molécula de reconocimiento celular.

[0072] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de la séptima molécula de reconocimiento celular.

5 [0073] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido al epítipo integrado o incluido, heterólogo. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una octava molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de que carezca de uno o más epítopos integrados o incluidos
10 presentes en la molécula de reconocimiento celular.

[0074] En determinadas moléculas del Conjunto #3, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en
15 comparación con una novena molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje.

20 Conjunto #4 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga en o próximo a un extremo amino terminal y en donde el polipéptido efector de toxina Shiga comprende un epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo

[0075] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o
25 integrado, heterólogo; en donde el polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o próximo a un extremo amino terminal de un polipéptido. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular, (ii) un componente de polipéptido y (iii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o integrado,
30 heterólogo; en donde el polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi
35 terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar
40 como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas realizaciones adicionales, el epítipo de célula T, heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T incluido o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular.
50

[0076] En determinadas moléculas del Conjunto #4, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una décima molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la décima molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la décima molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces,
60 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la décima molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0077] Para determinadas moléculas del Conjunto #4, la molécula de reconocimiento celular es capaz de administrar un epítipo de célula T CD8+ integrado o incluido, heterólogo a una vía de presentación de MHC de clase I de una célula para la presentación en la superficie celular del epítipo unido por una molécula de MHC de clase I.
65

[0078] En determinadas moléculas del Conjunto #4, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido al epítipo integrado o incluido, heterólogo. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una undécima molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de su carencia de uno o más epítopos integrados o incluidos presentes en la molécula de reconocimiento celular.

[0079] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #4, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la décima molécula de reconocimiento celular.

Conjunto #5 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que comprende un motivo de escisión por furina

[0080] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular y (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que comprende un motivo de escisión por furina alterado. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular y (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que comprende (a) un fragmento A1 de toxina Shiga derivado de una región que tiene un extremo carboxi terminal, (b) un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 y (c) como mínimo un epítipo de célula B y/o de célula T CD4+ y/o una región de epítipo endógeno, alterado. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una segunda molécula del reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, que comprende un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.

[0081] En determinadas moléculas del Conjunto #5, el polipéptido efector de toxina Shiga comprende una mutación que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, no existe ninguna alteración que es un truncamiento del extremo carboxi terminal de residuos de aminoácidos que se solapa con una parte o todo de como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T y/o región de epítipo endógeno, alterado.

[0082] En determinadas moléculas del Conjunto #5, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18), o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínimo del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R-x-x-R.

[0083] En determinadas moléculas del Conjunto #5, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.

[0084] En determinadas moléculas del Conjunto #5, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.

5 [0085] En determinadas moléculas del Conjunto #5, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la fracción molecular comprende la región de unión.

10 [0086] En determinadas moléculas del Conjunto #5, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.

15 [0087] En determinadas moléculas del Conjunto #5, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).

20 [0088] En determinadas moléculas del Conjunto #5, la región de unión está comprendida en una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

25 [0089] En determinadas moléculas del Conjunto #5, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas moléculas de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.

35 [0090] En determinadas moléculas del Conjunto #5, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad comparable con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, una duodécima molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que se encuentra en el intervalo desde 0,1 veces, 0,5 veces o 0,75 veces hasta 1,2 veces, 1,5 veces, 1,75 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces o 5 veces de la citotoxicidad mostrada por la duodécima molécula de reconocimiento celular.

45 [0091] En determinadas moléculas del Conjunto #4, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de la duodécima molécula de reconocimiento celular.

50 [0092] En determinadas moléculas del Conjunto #4, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje tal como, por ejemplo, la duodécima molécula de reconocimiento celular.

55 [0093] En determinadas moléculas del Conjunto #4, la molécula de reconocimiento celular comprende o consiste esencialmente en el polipéptido expuesto en cualquiera de SEQ ID NOs: 252-255, 259-271, 274-278 y 288-748 y, opcionalmente, la molécula de reconocimiento celular comprende un residuo de metionina del extremo amino terminal.

60 Conjunto #6 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal y un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado

65 [0094] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado y (iii) un diseño de señal de

retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado que comprende como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T CD4+, endógeno, alterado y (iii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular.

[0095] En determinadas moléculas del Conjunto #6, el motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se selecciona entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797).

[0096] En determinadas moléculas del Conjunto #6, el polipéptido efector de toxina Shiga comprende una mutación que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, no existe ninguna alteración que es un truncamiento del extremo carboxi terminal de residuos de aminoácidos que se solapa con una parte o todo de como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T y/o región de epítipo endógeno, alterado.

[0097] En determinadas moléculas del Conjunto #6, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una decimotercera molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a la excepción de que no comprende ningún diseño de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimotercera molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimotercera molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0098] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #6, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimotercera molécula de reconocimiento celular.

Conjunto #7 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado en o próximo al extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular

[0099] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado; en donde el polipéptido

efector de toxina Shiga se encuentra en o próximo a un extremo amino terminal. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un componente de polipéptido; y (iii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desimmunizado que comprende como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T CD4+ y/o una región de epítipo, endógeno, alterado; en donde el polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular.

[0100] En determinadas moléculas del Conjunto #7, el polipéptido efector de toxina Shiga comprende una mutación que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: 11-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID NO: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, no existe ninguna alteración que es un truncamiento del extremo carboxi terminal de residuos de aminoácidos que se solapa con una parte o todo de como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T y/o región de epítipo endógeno, alterado.

[0101] En determinadas moléculas del Conjunto #7, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una decimocuarta molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la decimocuarta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimocuarta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimocuarta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0102] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #7, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimocuarta molécula de reconocimiento celular.

[0103] En determinadas moléculas del Conjunto #7, la molécula de reconocimiento celular comprende o consiste esencialmente en el polipéptido expuesto en cualquiera de SEQ ID NOs: 252-255, 259-271, 274-278 y 288-748 y, opcionalmente, la molécula de reconocimiento celular comprende un residuo de metionina del extremo amino terminal.

Conjunto #8 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal y un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina alterado

[0104] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por

furina alterado; y (iii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal. La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular, cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina alterado; y (iii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una segunda molécula del reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, que comprende un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.

[0105] En determinadas moléculas del Conjunto #8, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOS: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOS: 3 y 7-18), o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínimo del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R- x-x-R.

[0106] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.

[0107] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.

[0108] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la fracción molecular comprende la región de unión.

[0109] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.

[0110] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).

[0111] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la región de unión está comprendida en una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

[0112] En determinadas moléculas del Conjunto #8, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas moléculas de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.

[0113] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se

introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una decimoquinta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a la excepción de que no comprende ningún diseño de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimoquinta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimoquinta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0114] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de una decimosexta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1.

[0115] En determinadas moléculas del Conjunto #8, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje tal como, por ejemplo, la decimosexta molécula de reconocimiento celular.

[0116] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #8, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimoquinta molécula de reconocimiento celular.

Conjunto #9 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga resistente a la escisión por furina en o en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular

[0117] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular y (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de su región del fragmento A de toxina Shiga; en donde el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular, (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que tiene un extremo amino terminal y un fragmento A1 de toxina Shiga derivado de una región que tiene un extremo carboxi terminal y (iii) un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1; en donde la región de unión no se ubica en las proximidades del extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una decimoséptima molécula del reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, que comprenden un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.

- 5 [0118] En determinadas moléculas del Conjunto #9, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18), o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínimo del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R- x-x-R.
- 10 [0119] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.
- 15 [0120] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.
- [0121] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular comprende la región de unión.
- 20 [0122] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 55 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.
- 25 [0123] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).
- 30 [0124] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la región de unión está comprendida en una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.
- 35 [0125] En determinadas moléculas del Conjunto #9, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas moléculas de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.
- 40 [0126] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una decimoctava molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la decimoctava molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimoctava molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimoctava molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.
- 50 [0127] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de una decimonovena molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1.
- 65

[0128] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje tal como, por ejemplo, la decimonovena molécula de reconocimiento celular.

[0129] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimonovena molécula de reconocimiento celular.

[0130] En determinadas moléculas del Conjunto #9, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación comprende o consiste esencialmente en el polipéptido expuesto en cualquiera de SEQ ID NOs: 252-255, 259-271, 274-278 y 288-748 y, opcionalmente, la molécula de reconocimiento celular comprende un residuo de metionina del extremo amino terminal.

Conjunto #10 - Moléculas de reconocimiento celular que comprenden un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal y polipéptido efector de toxina Shiga en o en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular

[0131] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular, (ii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal; y (iii) un polipéptido efector de toxina Shiga; en donde el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular, (ii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL; (iii) un componente de polipéptido y (iv) un polipéptido efector de toxina Shiga; en donde el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga.

[0132] Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular.

[0133] En determinadas moléculas del Conjunto #10, el motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se selecciona entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797).

[0134] En determinadas moléculas del Conjunto #10, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación

es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a la de una vigésima molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y la región del polipéptido efector de toxina Shiga que no se ubica en o en las proximidades al extremo amino terminal y/o es superior a la de una vigesimoprimer molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de que no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas realizaciones adicionales, la vigésima molécula de reconocimiento celular no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con las vigésima y/o vigesimoprimer moléculas de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de las vigésima y/o vigesimoprimer moléculas de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD_{50} .

[0135] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #10, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, las vigésima y/o vigésimo primera moléculas de reconocimiento celular.

Formato multivalente de las moléculas de reconocimiento celular de la presente invención

[0136] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es multivalente. En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende dos o más regiones de unión, en donde cada unión de región es capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana extracelular. Para determinadas realizaciones adicionales, la administración de la molécula de reconocimiento celular multivalente a una población de células acopladas físicamente a una biomolécula diana, que tiene la parte extracelular unida mediante dos o más regiones de unión, da como resultado un efecto citotóxico que es superior a un efecto citotóxico que es el resultado de la administración de una cantidad, masa o molaridad equivalente de un componente de molécula de unión diana de la molécula de reconocimiento celular multivalente a una población de las mismas células positivas diana bajo las mismas condiciones mediante un factor de 2, 2,5, 3, 4, 5, 7,5, 10 o superior que el cambio de veces en reconocimiento-unión entre el componente de la molécula de reconocimiento-unión monovalente y la molécula de reconocimiento celular monovalente tal como se calcula mediante constante de disociación (KD).

Conjunto #11 - Moléculas de reconocimiento celular multivalentes que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que comprende un epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo y una subregión desinmunizada no sobrepuesta

[0137] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada) que comprenden (i) dos o más regiones de unión, cada una capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana y (ii) un como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. Por ejemplo, en determinadas moléculas del Conjunto #11 la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una de las cuales es capaz de unirse de manera específica a la misma biomolécula diana extracelular y (ii) como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que comprende como mínimo un epítipo incluido o incorporado, heterólogo (a) y como mínimo una región de epítipo de célula B y/o T CD4+, alterada, endógena (b), en donde el epítipo heterólogo no se sobrepone sobre el epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, tras la administración de la molécula de reconocimiento celular multivalente a una pluralidad de células que se acoplan de manera física a una biomolécula diana extracelular de dos o más regiones de unión, que tienen la parte extracelular unida mediante dos o más regiones de unión, a una concentración de molécula de reconocimiento celular multivalente equivalente al cinco por ciento, diez por ciento, veinte por ciento, treinta y cinco por ciento, cincuenta por ciento, sesenta y cinco por ciento, setenta y cinco por ciento y/o ochenta por ciento de ocupación de superficie celular, la mayor parte de la molécula de reconocimiento celular multivalente se internaliza en la pluralidad de células en aproximadamente quince horas, diez horas, cinco horas, cuatro horas, tres horas, dos horas, una hora, treinta minutos o menos a una temperatura fisiológica adecuada para la célula y/o a aproximadamente 37 grados Celsius. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de

reconocimiento celular multivalente es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar activación de caspasa, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz, cuando se introduce en células, de mostrar una citotoxicidad comparable o superior a la citotoxicidad de una molécula de referencia introducida en el mismo tipo de células. Los ejemplos no limitativos de moléculas de referencia incluyen una segunda molécula de reconocimiento celular, tal como, por ejemplo, (1) una segunda molécula de reconocimiento celular monovalente que comprende solamente una de las dos o más regiones de unión de la molécula de reconocimiento celular multivalente de interés y uno o más de los mismos componentes de polipéptido efector de toxina Shiga y/o (2) una tercera molécula de reconocimiento celular multivalente que consiste en la molécula de reconocimiento celular multivalente a excepción de todos de sus componentes del polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje.

[0138] Cada uno de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado tiene un extremo amino terminal, tanto en lo que se refiere a un límite regional de polipéptido y/como un terminal de polipéptido físico.

[0139] En determinadas moléculas de la divulgación, el como mínimo un polipéptido efector de toxina desinmunizado comprende una región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o una región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga que tiene un extremo carboxi terminal. En determinadas moléculas de la divulgación, el como mínimo un polipéptido efector de toxina desinmunizado comprende una región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o una región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga que tiene un extremo carboxi terminal. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, todos los componentes de polipéptido efector de toxina de la molécula de reconocimiento celular multivalente, cada uno comprende una región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o una región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga que tiene un extremo carboxi terminal.

[0140] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular monovalente comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado.

[0141] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad y/o estabilidad *in vivo* mejorada en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una cuarta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular multivalente a excepción de que como mínimo uno de los componentes del polipéptido efector de toxina Shiga de la cuarta molécula de reconocimiento celular comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1 o región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, (1) todos los polipéptidos efectores de toxina Shiga desinmunizados ubicados en el extremo amino terminal en una fracción molecular son no citotóxicos y (2) la fracción molecular es citotóxica.

[0142] En determinadas moléculas del Conjunto #11, como mínimo una de las dos o más regiones de unión y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga se unen, tanto directamente como indirectamente, tal como, por ejemplo, se fusionan para formar un polipéptido continuo (véase, la Figura 1). En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, todas de las dos o más regiones de unión se unen entre sí, tanto directamente como indirectamente, a un componente de polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado de la molécula de reconocimiento celular multivalente (véase, por ejemplo, la Figura 1). En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, todas las dos o más regiones de unión y todos los polipéptidos efectores de toxina Shiga desinmunizados se unen entre sí, tanto directamente como indirectamente, tal como, por ejemplo, se fusionan para formar un polipéptido continuo (véase, por ejemplo, la Figura 1).

[0143] En determinadas moléculas del Conjunto #11, como mínimo una de las regiones de unión comprende un polipéptido que comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, como mínimo una de las dos o más regiones de unión comprende un polipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en: un dominio VH autónomo, fragmento de anticuerpo de dominio único (sdAb), nanocuerpo, dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un camélido (fragmento de dominio V_{HH} o V_H), dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un pez cartilaginoso (fragmento de dominio V_{HH} o V_H), receptor de antígeno nuevo de inmunoglobulina (IgNAR), fragmento V_{NAR}, fragmento variable de cadena única (scFv), fragmento variable de anticuerpo (Fv), fragmento de región 3 determinante complementaria (CDR3), polipéptido FR3-CDR3-FR4 limitado (FR3-CDR3- FR4), fragmento Fd, dominio inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP) domain, fragmento de unión a antígeno (Fab), polipéptido de repetición Armadillo (ArmRP), 10 dominio de fibronectina del tipo III derivado de fibronectina (10Fn3), dominio de tenascina del tipo III (TNfn3), dominio de motivo de repetición de anquirina, dominio A derivado del receptor de lipoproteína de baja intensidad (LDLR-A), lipocalina (anticalina), dominio de Kunitz, dominio Z derivado de la proteína, dominio derivado de gamma-B cristalina, dominio derivado de ubiquitina, polipéptido derivado de Sac7d (afitina), dominio SH2 derivado de Fyn, miniproteína, esqueleto de dominio similar a lectina del tipo C, imitación de anticuerpo modificado y cualquier equivalente manipulado genéticamente de cualquiera de los anteriores que retienen funcionalidad de unión. En determinadas moléculas de la divulgación, cada una de las dos o

más regiones de la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende un polipéptido que comprende una región de unión del tipo inmunoglobulina y/o un polipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en: un dominio V_H autónomo, un fragmento de anticuerpo de dominio único (sdAb), nanocuerpo, un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un camélido (fragmento de dominio V_H o V_HH), un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un pez cartilaginoso (fragmento de dominio V_HH o V_H), un receptor de antígeno nuevo de inmunoglobulina (IgNAR), un fragmento V_{NAR}, un fragmento variable de cadena única (scFv), un fragmento variable de anticuerpo (Fv), un fragmento de región 3 determinante complementaria (CDR3), un polipéptido de FR3-CDR3-FR4 limitado (FR3-CDR3-FR4), un fragmento Fd, un dominio inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP), un fragmento de unión a antígeno (Fab), un polipéptido de repetición Armadillo (ArmRP), 10 dominio de fibronectina de tipo III derivado de fibronectina (10Fn3), un dominio de tenascina de tipo III (TNfn3), un dominio de diseño de repetición de anquirina, un dominio A derivado de receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR-A), una lipocalina (anticalina), un dominio de Kunitz, un dominio Z derivado de la proteína A, un dominio derivado de gamma-B cristalina, un dominio derivado de ubiquitina, un polipéptido derivado de Sac7d (afitina), un dominio SH2 derivado de Fyn, miniproteína, un esqueleto de dominio similar a lectina del tipo C, una imitación de anticuerpo modificado y cualquier equivalente manipulado genéticamente de cualquiera de los anteriores que retiene funcionalidad de unión.

[0144] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende dos o más componentes proteínicos (por ejemplo, subunidades de proteína), en donde cada componente proteínico comprende (a) como mínimo una de las dos o más regiones de unión y, opcionalmente, (b) uno o más del como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas realizaciones adicionales, cada componente proteínico comprende (1) solamente una de las dos regiones de unión y (2) solamente un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular multivalente de la presente invención comprende exactamente dos componentes proteínicos.

[0145] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende dos o más componentes, en donde como mínimo un componente está asociado a la molécula de reconocimiento celular multivalente a través de una o más interacciones no covalentes. En determinadas realizaciones adicionales, como mínimo uno de los componentes es proteínico. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular multivalente de la presente invención comprende dos o más componentes proteínicos asociados uno con el otro, tanto directamente como indirectamente, a través de una o más interacciones no covalentes. En determinadas realizaciones adicionales, cada componente proteínico comprende (1) como mínimo una de las dos o más regiones de unión y (2) como mínimo uno de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado.

[0146] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular multivalente de la presente invención comprende dos o más polipéptidos efectores de toxina Shiga. En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular multivalente de la presente invención comprende dos o más componentes proteínicos (por ejemplo, subunidades de proteína), en donde cada componente proteínico comprende (a) como mínimo una de las dos o más regiones de unión y, opcionalmente, (b) uno o más polipéptidos efectores de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, cada componente proteínico comprende (1) solamente una de las dos o más regiones de unión y (2) solamente un polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular multivalente de la presente invención comprende dos o más componentes (por ejemplo, un componente proteínico), en donde como mínimo un componente está asociado a la molécula de reconocimiento celular multivalente a través de una o más interacciones no covalentes. En determinadas realizaciones adicionales, cada componente proteínico comprende (1) como mínimo una de las dos o más regiones de unión y (2) como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga.

[0147] En determinadas moléculas de la divulgación, un componente de polipéptido efector de toxina Shiga de la molécula de reconocimiento celular multivalente de la presente divulgación comprende una región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o una región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga que tiene un extremo carboxi terminal. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga de la molécula de reconocimiento celular multivalente, cada uno comprende una región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o una región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga que tiene un extremo carboxi terminal.

[0148] Para determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz de mostrar (i) un nivel de actividad catalítica comparable con un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje o un polipéptido efector de toxina de tipo salvaje, (ii) una actividad de inhibición de ribosoma con un valor de concentración inhibidora media máxima (IC₅₀) de 10.000 picomolares o inferior y/o (iii) un nivel importante de actividad catalítica de toxina Shiga.

[0149] Para determinadas realizaciones del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente y/o su como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar eficiencia de recorrido subcelular en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje o un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje y/o es capaz de mostrar un nivel importante de actividad de recorrido intracelular para el retículo endoplasmático y/o el citosol desde una ubicación inicial endosómica de la una célula.

[0150] Para determinadas moléculas del Conjunto #11, a través de las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular multivalente a una célula acoplada físicamente a una biomolécula diana extracelular de dos o más regiones de unión de molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz de causar la muerte de la célula.

5 En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la administración de la molécula de reconocimiento celular multivalente a dos poblaciones diferentes de tipos de células que se difieren en lo que respecta a la presencia o el nivel de la biomolécula diana extracelular acoplada físicamente, la molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz de causar muerte celular a los tipos de células acopladas físicamente a una biomolécula diana extracelular de las dos o más regiones de unión de molécula de reconocimiento celular multivalente a una concentración de CD_{50} de como mínimo tres veces o inferior a la CD_{50} para los tipos de células, que no se acoplan de manera física a una biomolécula diana extracelular de las dos o más regiones de unión de la molécula de reconocimiento celular multivalente.

10 Para determinadas moléculas de la divulgación, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular multivalente a una primera población de células cuyos miembros se acoplan físicamente a biomoléculas diana extracelulares de las dos o más regiones de unión de molécula de reconocimiento celular multivalente y una segunda población de células cuyos miembros no se acoplan físicamente a ninguna biomolécula diana extracelular de las dos o más regiones de unión, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular multivalente para los miembros de dicha primera población de células que tienen relación con los miembros de dicha segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor.

15 Para determinadas moléculas de la divulgación, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular multivalente a una primera población de células cuyos miembros se acoplan físicamente a una cantidad importante de biomoléculas diana extracelulares de las dos o más regiones de unión de molécula de reconocimiento celular multivalente y una segunda población de células cuyos miembros no se acoplan físicamente a ninguna cantidad importante de ninguna biomolécula diana extracelular de las dos o más regiones de unión, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular multivalente para los miembros de dicha primera población de células que tienen relación con los miembros de dicha segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor.

20 Para determinadas moléculas de la divulgación, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular multivalente a una primera población de células positivas de biomolécula diana y una segunda población de células cuyos miembros no expresan una cantidad importante de una biomolécula diana de las dos o más regiones de unión de la molécula de reconocimiento celular multivalente en una superficie celular, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular multivalente para los miembros de la primera población de células que tienen relación con los miembros de la segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor.

[0151] Para determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente de la presente divulgación es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad con un valor de la media de la concentración inhibitoria media máxima (CD_{50}) de 300 nanomolares (nM) o inferior y/o es capaz de mostrar un nivel importante de citotoxicidad de toxina Shiga.

35

[0152] Para determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz de administrar un epítipo de célula T $CD8+$ integrado o incluido, heterólogo a una vía de presentación de MHC de clase I de una célula para la presentación en la superficie celular del epítipo unido por una molécula de MHC de clase I.

40

[0153] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende una fracción molecular asociada al extremo carboxi terminal del como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas de la divulgación, la fracción molecular comprende o consiste en una o más de dos o más regiones de unión. En determinadas moléculas de la divulgación, la fracción molecular comprende como mínimo un aminoácido y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se une, tanto directamente como indirectamente, a como mínimo un residuo de aminoácido de la fracción molecular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la fracción molecular y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se fusionan, tanto directamente como indirectamente, formando un polipéptido continuo. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la(s) fracción(es) molecular(es) se fusiona(n) con el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado, tanto directamente como indirectamente, formando un polipéptido continuo.

45

50

[0154] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende una fracción molecular citotóxica asociada al extremo carboxi terminal del como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas realizaciones, la fracción molecular citotóxica es un agente citotóxico, tal como, por ejemplo, un agente quimioterapéutico de molécula pequeña, un agente antineoplásico, un antibiótico citotóxico, un antiinfeccioso citotóxico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor de topoisomerasa y/o un inhibidor de tubulina que un experto conoce y/o se describen en el presente documento. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular citotóxica es citotóxica a concentraciones inferiores a 10.000, 5.000, 1.000, 500 o 200 picomolares (pM).

55

60

[0155] En determinadas moléculas del Conjunto #11, las dos o más regiones de unión son capaces de unirse a una biomolécula diana extracelular seleccionada entre el grupo que consiste en: CD20, CD22, CD40, CD74, CD79, CD25, CD30, HER2/neu/ErbB2, EGFR, EpCAM, EphB2, antígeno de membrana específico de próstata, Cripto, CDPC1,

65

endoglina, proteína de activación de fibroblasto, Lewis-Y, CD19, CD21, CS1/ SLAMF7, CD33, CD52, CD 133, CEA, gpA33, mucina, TAG-72, receptor de transmembrana de proteína tirosina cinasa (ROR1 o NTRKR1), anhidrasa carbónica IX, proteína de unión a folato, gangliósido GD2, gangliósido GD3, gangliósido GM2, gangliósido Lewis-Y2, VEGFR, Alfa V beta3, Alfa5beta1, ErbB1/EGFR, Erb3, c-MET, IGF1R, EphA3, TRAIL-R1, TRAIL-R2, RANK, FAP, tenascina, CD64, mesotelina, BRCA1, MART-1/MelanA, gp100, tirosinasa, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, GAGE-1/2, BAGE, RAGE, NY-ESO-1, CDK-4, beta-catenina, MUM-1, caspasa-8, KIAA0205, HPVE6, SART-1, PRAME, antígeno carcinoembrionario, antígeno específico de próstata, antígeno de células madre de próstata, aspartil (asparaginil) beta-hidroxilasa humana, EphA2, HER3/ErbB-3, MUC1, MART-1/MelanA, gp100, antígeno asociado a tirosinasa, HPV-E7, antígeno del virus de Epstein-Barr, Bcr-Abl, antígeno de alfa-fetoproteína, 17-A1, antígeno de tumor de vejiga, SAIL, CD38, CD15, CD23, CD45 (receptor de proteína tirosina fosfatasa del tipo C), CD53, CD88, CD129, CD183, CD191, CD193, CD244, CD294, CD305, C3AR, FcεR1a, galectina-9, IL-1R (receptor de interleucina-1), mrp- 14, ligando de NKG2D, ligando 1 de muerte programada (PD-L1), Siglec-8, Siglec-10, CD49d, CD13, CD44, CD54, CD63, CD69, CD123, TLR4, FcεR1a, IgE, CD107a, CD203c, CD14, CD68, CD80, CD86, CD105, CD115, F4/80, ILT-3, galectina-3, CD11a-c, GITRL, molécula de MHC de clase I, molécula de MHC de clase II (opcionalmente en complejo con un péptido), CD284 (TLR4), CD107-Mac3, CD195 (CCR5), HLA-DR, CD 16/32, CD282 (TLR2), Cd11c y cualquier fragmento inmunogénico de cualquiera de los anteriores.

[0156] En determinadas moléculas del Conjunto #11, una o más de las dos o más regiones de unión se une, tanto directamente como indirectamente, a como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado mediante como mínimo un enlace covalente que no es un enlace de disulfuro. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, una o más de las dos o más regiones de unión de molécula de reconocimiento celular multivalente se fusiona, tanto directamente como indirectamente, con el extremo carboxi terminal del como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizada para formar un polipéptido único, continuo. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, como mínimo una de las dos o más regiones de unión comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, cada una de todas de las dos o más regiones de unión de molécula de reconocimiento celular multivalente comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina.

[0157] En determinadas moléculas del Conjunto #11, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones en el sitio de escisión por furina mínimo que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado no es un truncamiento del extremo amino terminal de secuencias que se superponen con una parte o todo de como mínimo un residuo de aminoácido del sitio de escisión por furina mínimo. En determinadas moléculas de la divulgación, la mutación en el sitio de escisión por furina mínima es una supresión de aminoácido, inserción y sustitución de como mínimo un residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina R/Y-x-x-R. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende como mínimo una mutación, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en una región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18) o la posición de secuencia de aminoácidos equivalente en cualquier subunidad A de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la mutación es una sustitución del residuos de aminoácido en un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente.

[0158] En determinadas moléculas del Conjunto #11, como mínimo una de las dos o más regiones de unión comprende el péptido o el polipéptido mostrado en cualquiera de SEQ ID NOs: 39- 245.

[0159] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende el polipéptido expuesto en cualquiera de SEQ ID NOs: 252-255 y 288-748. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende o consiste esencialmente en dos proteínas, cada proteína se selecciona entre cualquiera de los polipéptidos mostrados en SEQ ID NOs: 252- 255, 288 y 748, y, opcionalmente, cada proteína comprende adicionalmente un residuo de metionina del extremo amino terminal.

[0160] En determinadas moléculas del Conjunto #11, como mínimo una de las dos o más regiones de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 derivado de la región de como mínimo uno de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la como mínimo una de las dos o más regiones de unión cubre estéricamente los extremos carboxi terminales de la región de fragmento A1 o la región derivada de fragmento A1 de todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga presentes en la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, cada uno de los extremos carboxi terminales de la región de fragmento A1 o la región derivada de fragmento A1 de cada componente de polipéptido efector de toxina Shiga presente en la molécula de reconocimiento celular multivalente se cubre estéricamente por como mínimo una de las dos o más regiones de unión.

[0161] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 y/o región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga de como mínimo uno de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas adicionales de la

divulgación, la fracción molecular comprende como mínimo una de las dos o más regiones de unión.

[0162] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 y/o región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga de como mínimo uno de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la(s) fracción(es) molecular(es) cubre(n) estéricamente los extremos carboxi terminales de la región de fragmento A1 o la región derivada de fragmento A1 de todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga presentes en la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, cada uno de los extremos carboxi terminales de la región de fragmento A1 o la región derivada de fragmento A1 de cada componente de polipéptido efector de toxina Shiga presente en la molécula de reconocimiento celular multivalente se cubre estéricamente por como mínimo una de las fracciones moleculares. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, cada una de las fracciones moleculares presentes en la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende como mínimo una de las dos o más regiones de unión.

[0163] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende como mínimo una de las dos o más regiones de unión y/o fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal para los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende las dos o más regiones de unión y la fracción molecular ubicada en la molécula de reconocimiento celular multivalente en una posición del extremo carboxi terminal para los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o la región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado.

[0164] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende la región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular multivalente retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad, recorrido intracelular y/o parámetro(s) cinético(s) de internalización celular). En determinadas moléculas del Conjunto #11, las dos o más regiones de unión tienen una masa combinada de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular multivalente retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad, recorrido intracelular y/o parámetro(s) cinético(s) de internalización celular). En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, cada una de las dos o más regiones de unión de la molécula de reconocimiento celular multivalente comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular multivalente retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad, recorrido intracelular y/o parámetro(s) cinético(s) de internalización celular).

[0165] En determinadas moléculas del Conjunto #11, como mínimo una de las dos o más regiones de unión está comprendida en una fracción molecular relativamente grande tal como, por ejemplo, la fracción molecular que tiene una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular multivalente retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

[0166] En determinadas moléculas del Conjunto #11, como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado está más próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, ninguna de las dos o más regiones de unión comprendida en la misma cadena de polipéptido de un componente de la molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado, está próxima a un extremo amino terminal de aquella cadena de polipéptido que tiene relación con como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado comprendido en aquella cadena de polipéptido. En determinadas moléculas de la divulgación, el extremo amino terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se ubica en y/o próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, los extremos amino terminales de todos los polipéptidos efectores de toxina Shiga presentes en la molécula de reconocimiento celular multivalente se ubican en y/o están próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. En

determinadas moléculas adicionales de la divulgación, ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades a ningún extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con como mínimo un componente del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas de la divulgación, las dos o más regiones de unión se unen en la molécula de reconocimiento celular multivalente más próxima al extremo carboxi terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que al extremo amino terminal de aquel polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas de la divulgación, todos los componentes del polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado están más próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de aquel componente de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de ningún componente de polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas de la divulgación, todos los componentes del polipéptido efector de toxina Shiga están más próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de aquel componente de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de ningún componente de polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz, cuando se introduce en células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una molécula de referencia tal como, por ejemplo, una quinta molécula de reconocimiento celular que comprende un componente de polipéptido que tiene un extremo amino terminal y que comprende las mismas dos o más regiones de unión y el(los) mismo(s) polipéptido(s) efector(es) de toxina Shiga desinmunizado(s) que no se ubican en o son próximo(s) a un extremo amino terminal físico de un componente de polipéptido de la quinta molécula de reconocimiento celular o una sexta molécula de reconocimiento celular que comprende las mismas dos o más regiones de unión y el(los) mismo(s) componente(s) de polipéptido efector de toxina Shiga como la molécula de reconocimiento celular multivalente, en donde como mínimo una de las dos o más regiones de unión se encuentra en las proximidades de un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular muestra una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la cuarta molécula de reconocimiento celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la quinta y/o la sexta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD_{50} . En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la eficiencia del recorrido subcelular de la quinta y/o sexta moléculas de reconocimiento celular.

En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la quinta y/o la sexta molécula de reconocimiento celular no comprende ningún extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/modelo de señal de recuperación de la familia KDEL.

[0167] En determinadas moléculas del Conjunto #11, el extremo amino terminal del como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado se ubica en y/o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, los extremos amino terminales de todos los polipéptidos efectores de toxina Shiga presentes en la molécula de reconocimiento celular multivalente se ubican en y/o están próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado está más próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, ninguna de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado, está próxima a un extremo amino terminal de aquella cadena de polipéptido que tiene relación con como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado comprendido en aquella cadena de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en

proximidades a ningún extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con como mínimo un componente del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas de la divulgación, las dos o más regiones de unión se unen en la molécula de reconocimiento celular multivalente más próxima al extremo carboxi terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que al extremo amino terminal de aquel polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades a ningún extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con como mínimo un componente del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión se unen en la molécula de reconocimiento celular multivalente más próxima al extremo carboxi terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal de aquel polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas de la divulgación, todos los componentes del polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado están más próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de aquel componente de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de ningún componente de polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas de la divulgación, todos los componentes del polipéptido efector de toxina Shiga están más próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de aquel componente de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de ningún componente de polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular muestra citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una séptima molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene un extremo amino terminal y que comprende las mismas dos o más regiones de unión y los mismos componentes de polipéptido efector de toxina Shiga como la molécula de reconocimiento celular multivalente, en donde ninguno de los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga se ubica y/o está próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la séptima molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD_{50} . En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la eficiencia del recorrido subcelular de la séptima molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la séptima molécula de reconocimiento celular no comprende ningún extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/modelo de señal de recuperación de la familia KDEL.

[0168] En determinadas moléculas adicionales del Conjunto #11, las dos o más regiones de unión no se ubican en proximidades un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que las dos o más regiones de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizada. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, ninguna de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de un componente de la molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado, está próxima a un extremo amino terminal de aquella cadena de polipéptido que tiene relación con como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado comprendido en aquella cadena de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el extremo amino terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado se ubica en y/o está próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, los extremos amino terminales de todos los polipéptidos efectores de toxina Shiga presentes en la molécula de reconocimiento celular multivalente se ubican en y/o están próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel

componente de polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades a ningún extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con como mínimo un componente del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas de la divulgación, las dos o más regiones de unión se unen en la molécula de reconocimiento celular multivalente más próxima al extremo carboxi terminal de como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que al extremo amino terminal de aquel polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado. En determinadas moléculas de la divulgación, todos los componentes del polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado están más próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de aquel componente de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión y el como mínimo un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de ningún componente de polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas de la divulgación, todos los componentes del polipéptido efector de toxina Shiga están más próximos a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene relación con cualquiera de las dos o más regiones de unión comprendidas en la misma cadena de polipéptido de aquel componente de polipéptido. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, las dos o más regiones de unión se organizan u orientan físicamente en la molécula de reconocimiento celular multivalente de tal modo que ninguna de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades al extremo amino terminal de ningún componente de polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene relación con el extremo carboxi terminal de aquel componente de polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular muestra citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una octava molécula de reconocimiento celular multivalente que tiene un componente de polipéptido que tiene un extremo amino terminal y que comprende las mismas dos o más regiones de unión y el(los) mismo(s) componente(s) de polipéptido efector de toxina Shiga como la molécula de reconocimiento celular multivalente, en donde como mínimo una de las dos o más regiones de unión se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular multivalente para cada uno de todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la eficiencia del recorrido subcelular de la octava molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la octava molécula de reconocimiento celular no comprende ningún extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/motivo de señal de recuperación de la familia KDEL.

[0169] En determinadas moléculas del Conjunto #11, la molécula de reconocimiento celular multivalente y/o un componente de polipéptido de la misma comprende un extremo carboxi terminal, retención de retículo endoplasmático/motivo de señal de recuperación de un miembro de la familia KDEL. En determinadas realizaciones adicionales, el motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se selecciona entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797). En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una novena molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular con excepción de que no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la novena molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la novena molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0170] Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular multivalente muestra baja potencia citotóxica (es decir, no es capaz, cuando se introduce en determinados tipos de células diana positivas, de mostrar una citotoxicidad mayor al 1% de muerte celular de una población de células a una concentración de molécula de reconocimiento celular multivalente de 1000 nM, 500nM, 100 nM, 75 nM o 50 nM) y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la eficiencia del recorrido subcelular de la segunda, tercera, cuarta, quinta, sexta, séptima, octava y /o novena molécula de reconocimiento celular.

5
10 Conjunto #12 - Moléculas de reconocimiento celular multivalentes que comprenden un motivo de señal de retención/recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal y un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo

15 [0171] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o integrado, heterólogo; y (iii) un motivo de señal de retención /recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo integrado o incluido, heterólogo; y (iii) un motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas de la divulgación, el epítipo heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano. Para determinadas realizaciones adicionales, el epítipo de célula T CD8+, heterólogo es capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. Para determinadas moléculas del Conjunto #12, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T incluido o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular.

35 [0172] En determinadas moléculas del Conjunto #12, el motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se selecciona entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797).

50 [0173] En determinadas moléculas del Conjunto #12, el epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo altera la región del epítipo de célula B y/o célula T, endógeno seleccionado entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situado originalmente que consiste en: (i) 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; y (iii) 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

65 [0174] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #12, el epítipo heterólogo es un epítipo de célula T CD8+ capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo heterólogo se integra y reemplaza un número equivalente de residuos de aminoácidos en una región del polipéptido de toxina Shiga de tipo salvaje, de tal modo que el polipéptido efector de

toxina Shiga tiene el mismo número total de residuos de aminoácidos como la región de polipéptido de toxina Shiga del tipo salvaje de la que deriva. Para determinadas moléculas adicionales de cualquiera de las anteriores, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga seleccionada entre: dirigir el recorrido intracelular a un citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma y citotoxicidad.

[0175] En determinadas moléculas del Conjunto #12, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una quinta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de que no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la quinta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la quinta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0176] Para determinadas moléculas del Conjunto #12, la molécula de reconocimiento celular es capaz de administrar un epítipo de célula T CD8+ integrado o incluido, heterólogo a una vía de presentación de MHC de clase I de una célula para la presentación en la superficie celular del epítipo unido por una molécula de MHC de clase I.

[0177] Para determinadas moléculas del Conjunto #12, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido al epítipo integrado o incluido, heterólogo. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una sexta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de su carencia de uno o más epítopos integrados o incluidos presentes en la molécula de reconocimiento celular.

[0178] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #12, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la eficiencia del recorrido subcelular de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la quinta molécula de reconocimiento celular.

Conjunto #13 – Moléculas de reconocimiento celular multivalentes que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende (i) un epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo y (ii) un motivo de escisión por furina, alterado en el extremo carboxi terminal de una región derivada del fragmento A1

[0179] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o integrado, heterólogo; y (iii) un motivo de escisión por furina alterado. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende (a) un epítipo incluido o integrado, heterólogo; (b) un fragmento A1 de toxina Shiga derivado de una región que tiene un extremo carboxi terminal; y (c) un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de la región derivada del fragmento A1. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende (a) un epítipo incluido o integrado, heterólogo; (b) un fragmento A1 de toxina Shiga derivado de una región que tiene un extremo carboxi terminal; y (c) un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano, Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es capaz de estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la presente invención, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T incluido o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una segunda molécula del reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de como mínimo uno de sus componentes de polipéptido efector

de toxina Shiga, que comprende un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una segunda molécula de referencia que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de que todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga comprenden un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.

[0180] En determinadas moléculas del Conjunto #13, el epítipo integrado o incluido, heterólogo altera la región del epítipo de célula B y/o célula T, endógeno seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: (i) 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1- 2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; y (iii) 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

[0181] En determinadas moléculas del Conjunto #13, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18), o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínimo del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R- x-x-R.

[0182] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga o la región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga.

[0183] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 o la región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga.

[0184] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 o la región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la fracción molecular comprende la región de unión.

[0185] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal para los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga o la región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6, kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.

[0186] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).

[0187] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la región de unión está comprendida en una fracción molecular relativamente grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

[0188] En determinadas moléculas del Conjunto #13, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato,

asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas realizaciones, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.

5 [0189] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad comparable con la citotoxicidad de una séptima molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del
10 fragmento A1 y/o región derivada del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que se encuentra en un intervalo desde 0,1 veces, 0,5 veces o 0,75 veces hasta 1,2 veces, 1,5 veces, 1,75 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces o 5 veces de la citotoxicidad mostrada por la séptima molécula de reconocimiento celular.

15 [0190] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de la séptima molécula de reconocimiento celular. Para las moléculas de la divulgación, en donde la fracción molecular no es tóxica y la fracción molecular comprende la región de unión, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de la
20 séptima molécula de reconocimiento celular solamente cuando todas las regiones de unión de la molécula de reconocimiento celular se asocian o se unen, tanto directamente como indirectamente, a un polipéptido efector de toxina Shiga en una posición del extremo carboxi terminal para el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o la región derivada del fragmento A1 de toxina Shiga de aquel polipéptido efector de toxina Shiga.

25 [0191] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido al epítipo integrado o incluido, heterólogo. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una octava molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de su carencia de uno o más epítopos integrados o incluidos presentes en la molécula de reconocimiento celular.

[0192] En determinadas moléculas del Conjunto #13, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una novena molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje.

40 Conjunto #14 - Moléculas de reconocimiento celular multivalentes que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga en o próximo a un extremo amino terminal y en donde el polipéptido efector de toxina Shiga comprende un epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo

45 [0193] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o integrado, heterólogo; en donde el polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o es próximo a un extremo amino terminal de un polipéptido. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular, (ii) un componente de polipéptido y (iii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un epítipo incluido o integrado, heterólogo; en donde el polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o está próximo a un extremo amino terminal del componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es un epítipo de célula T CD8+, tal como, por ejemplo, en lo que se refiere a un sistema inmune humano. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el epítipo de célula T, heterólogo es capaz de

5 estar representado por una molécula de MHC de clase I de una célula. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis, causar muerte celular y/o administrar el epítipo de célula T incluido o incluido, heterólogo a una molécula de MHC de clase I para su presentación sobre una superficie celular.

10 [0194] En determinadas moléculas del Conjunto #14, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una décima molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y la región del polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la décima molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la décima molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la décima molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD_{50} .

20 [0195] Para determinadas moléculas del Conjunto #14, la molécula de reconocimiento celular es capaz de administrar un epítipo de célula T CD8+ integrado o incluido, heterólogo a una vía de presentación de MHC de clase I de una célula para la presentación en la superficie celular del epítipo unido por una molécula de MHC de clase I.

25 [0196] En determinadas moléculas del Conjunto #14, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido al epítipo integrado o incluido, heterólogo. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una undécima molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de su carencia de uno o más epítopos integrados o incluidos presentes en la molécula de reconocimiento celular.

30 [0197] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #14, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la décima molécula de reconocimiento celular.

35 Conjunto #15 - Molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que comprende un motivo de escisión por furina, alterado

40 [0198] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una es capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana, y (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado que comprende un motivo de escisión por furina alterado. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular y (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que comprende (a) un fragmento A1 de toxina Shiga derivado de una región que tiene un extremo carboxi terminal, (b) un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1 y (c) como mínimo un epítipo de célula B y/o de célula T CD4+ y/o una región de epítipo endógeno, alterado. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una segunda molécula del reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, que comprenden un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.

60 [0199] En determinadas moléculas del Conjunto #15, el polipéptido efector de toxina Shiga comprende una mutación que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-

- 190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID NO:3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, no existe ninguna alteración que es un truncamiento del extremo carboxi terminal de residuos de aminoácidos que se solapa con una parte o todo de como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T y/o una región de epítipo endógeno, alterado.
- 5
- 10 [0200] En determinadas moléculas del Conjunto #15, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18), o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínimo del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R- x-x-R.
- 15
- 20 [0201] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.
- 25 [0202] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.
- [0203] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la fracción molecular comprende la región de unión.
- 30
- [0204] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 35 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.
- [0205] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 40 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).
- 45 [0206] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la región de unión está formada por una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 10 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.
- 50 [0207] En determinadas moléculas del Conjunto #15, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas moléculas de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.
- 55
- 60 [0208] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad comparable con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, una duodécima molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que se encuentra en un intervalo desde 0,1 veces, 0,5 veces o 0,75 veces hasta 1,2 veces, 1,5 veces, 1,75 veces, 2 veces, 3 veces, 4 65 veces o 5 veces de la citotoxicidad mostrada por la duodécima molécula de reconocimiento celular.

[0209] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de la duodécima molécula de reconocimiento celular.

[0210] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje tal como, por ejemplo, la duodécima molécula de reconocimiento celular.

[0211] En determinadas moléculas del Conjunto #15, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación comprende dos proteínas seleccionadas entre cualquiera de los polipéptidos expuestos en cualquiera de SEQ ID NOs: 252-255, 259-271, 274-278 y 288-748 y que, opcionalmente, comprende un residuo de metionina del extremo amino terminal.

Conjunto #16 - Molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende un motivo de señal de retención/recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal y un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado

[0212] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una es capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado y (iii) un diseño de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desinmunizado que comprende como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T CD4+, endógeno, alterado y (iii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular.

[0213] En determinadas moléculas del Conjunto #16, el motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se selecciona entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEL (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797).

[0214] En determinadas moléculas del Conjunto #16, el polipéptido efector de toxina Shiga comprende una mutación que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID NOs: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, no existe ninguna alteración que es un truncamiento del extremo carboxi terminal de residuos de aminoácidos que se solapa con una parte o todo de como

mínimo un epítipo de célula B y/o célula T y/o región de epítipo endógeno, alterado.

[0215] En determinadas moléculas del Conjunto #16, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una decimotercera molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a la excepción de que no comprende ningún diseño de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimotercera molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimotercera molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0216] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #16, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimotercera molécula de reconocimiento celular.

Conjunto #17 - Molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende una polipéptido efector de toxina Shiga desimmunizado en o próximo a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular

[0217] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una es capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, desimmunizado; en donde el polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o es próximo a un extremo amino terminal. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular, (ii) un componente de polipéptido y (iii) un polipéptido efector de toxina Shiga desimmunizado que comprende como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T CD4+ y/o una región de epítipo alterado, endógeno; en donde el polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o está próximo a un extremo amino terminal del componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular.

[0218] En determinadas moléculas del Conjunto #17, el polipéptido efector de toxina Shiga comprende una mutación que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, no existe ninguna alteración que es un truncamiento del extremo carboxi terminal de residuos de aminoácidos que se solapa con una parte o todo de como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T y/o región de epítipo endógeno, alterado.

[0219] En determinadas moléculas del Conjunto #17, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una decimocuarta molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector

de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la decimocuarta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimocuarta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimocuarta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0220] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #17, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimocuarta molécula de reconocimiento celular.

[0221] En determinadas moléculas del Conjunto #17, la molécula de reconocimiento celular comprende dos proteínas seleccionadas entre cualquiera de los polipéptidos expuestos en cualquiera de SEQ ID NOs: 252-255, 259-271, 274-278 y 288-748 y que, opcionalmente, comprende un residuo de metionina del extremo amino terminal.

Conjunto #18 - Molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende un motivo de señal de retención/recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal y un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina alterado

[0222] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una es capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga, que comprende un motivo de escisión por furina alterado; y (iii) un motivo de señal de retención/recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal. La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular, cada una comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina alterado; y (iii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una segunda molécula del reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, que comprende un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.

[0223] En determinadas moléculas del Conjunto #18, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18), o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínima del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R- x-x-R.

[0224] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.

[0225] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.

[0226] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular comprende la región de unión.

[0227] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de

unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6, kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.

[0228] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).

[0229] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la región de unión está formada por una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

[0230] En determinadas moléculas del Conjunto #18, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas moléculas de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.

[0231] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una decimoquinta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a la excepción de que no comprende ningún diseño de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimoquinta molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimoquinta molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD₅₀.

[0232] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de una decimosexta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en su extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1.

[0233] En determinadas moléculas del Conjunto #18, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje tal como, por ejemplo, la decimosexta molécula de reconocimiento celular.

[0234] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #18, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimoquinta molécula de reconocimiento celular.

Conjunto #19 – Molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende un polipéptido efector de toxina Shiga resistente a la escisión por furina en o en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular

[0235] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una es capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana y (ii) un polipéptido efector de

- toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de su región del fragmento A de toxina Shiga; en donde el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular; (ii) un polipéptido efector de toxina Shiga que tiene un extremo amino terminal y un fragmento A1 de toxina Shiga derivado de una región que tiene un extremo carboxi terminal; y (iii) un motivo de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1; en donde la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular. Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en células, de mostrar una citotoxicidad comparable o mejor que una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una decimoséptima molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, que comprenden un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región de fragmento A1.
- [0236] En determinadas moléculas del Conjunto #19, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en la posición 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18), o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, en un sitio de escisión por furina mínimo del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el sitio de escisión por furina mínimo se representa por la secuencia de aminoácidos de consenso R/Y-x-x-R y/o R- x-x-R.
- [0237] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.
- [0238] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.
- [0239] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la fracción molecular comprende la región de unión.
- [0240] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión y/o una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6, kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.
- [0241] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).
- [0242] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la región de unión está comprendida en una fracción molecular relativamente grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga

señalado en el presente documento.

[0243] En determinadas moléculas del Conjunto #19, el motivo de escisión por furina alterado comprende una sustitución de residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente seleccionado entre el grupo que consiste en: alanina, glicina, prolina, serina, treonina, aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, cisteína, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina. En determinadas moléculas de la divulgación, la sustitución del residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina es de un residuo de arginina por una histidina.

[0244] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una decimotava molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la decimotava molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la decimotava molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la decimotava molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD_{50} .

[0245] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad *in vivo* mejorada en comparación con la tolerabilidad *in vivo* de una decimonovena molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, donde cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1.

[0246] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular se desinmuniza debido a la alteración del motivo de escisión por furina. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar menor antigenicidad relativa y/o inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción del motivo de escisión por furina es de tipo salvaje y/o todos los componentes de polipéptido efector de toxina Shiga consisten en un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje tal como, por ejemplo, la decimonovena molécula de reconocimiento celular.

[0247] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la decimonovena molécula de reconocimiento celular.

[0248] En determinadas moléculas del Conjunto #19, la molécula de reconocimiento celular comprende dos proteínas seleccionadas entre cualquiera de los polipéptidos expuestos en cualquiera de SEQ ID NOs: 252-255, 259-271, 274-278 y 288-748 y que, opcionalmente, comprende un residuo de metionina del extremo amino terminal.

Conjunto #20 - Molécula de reconocimiento celular multivalente que comprende un motivo de señal de retención/recuperación del retículo endoplasmático del extremo carboxi terminal y polipéptido efector de toxina Shiga en o en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular molécula

[0249] La presente divulgación proporciona moléculas de reconocimiento celular multivalentes (que no forman parte de la presente invención reivindicada), cada una comprende (i) dos o más regiones de unión, cada una capaz de unirse de manera específica a una parte extracelular de la misma biomolécula diana; (ii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal y (iii) un polipéptido efector de toxina Shiga; en donde el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en y/o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular comprende (i) una región de unión capaz de unirse de manera específica a una biomolécula diana extracelular, (ii) un motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL; (iii) un componente de polipéptido y (iv) un polipéptido efector de toxina Shiga; en donde el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en o está próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento

celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la región de unión no se ubica en proximidades a un extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga.

[0250] Para determinadas moléculas adicionales de la divulgación, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar como mínimo una función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, dirigir el recorrido intracelular al retículo endoplasmático y/o citosol de una célula en la que está presente el polipéptido, inhibir una función de ribosoma, desactivar de manera enzimática un ribosoma, causar citostasis y/o causar citotoxicidad. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de uno o más de lo siguiente: penetrar en una célula, inhibir una función de ribosoma, causar citostasis y/o causar muerte celular.

[0251] En determinadas moléculas del Conjunto #20, el motivo de señal de retención/ recuperación del retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se selecciona entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL (SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797).

[0252] En determinadas moléculas del Conjunto #20, la molécula de reconocimiento celular es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar citotoxicidad que es superior a aquella de una vigésima molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y la región del polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o en proximidades del extremo amino terminal de la vigesimoprimera molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de que no comprende ningún diseño de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la vigésima molécula de reconocimiento celular no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de la familia KDEL. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular es capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia citotóxica mejor optimizada, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, las vigésima y/o vigesimoprimera moléculas de reconocimiento celular. En determinadas moléculas adicionales de la divulgación, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular para una población de células positivas diana es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de las vigésima y/o vigesimoprimera moléculas de reconocimiento celular para una segunda población de células positivas diana, tal como se analiza mediante valores CD_{50} .

[0253] Para determinadas moléculas adicionales del Conjunto #20, la molécula de reconocimiento celular no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, las vigésima y/o vigesimoprimera moléculas de reconocimiento celular.

Realizaciones adicionales de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención

[0254] En determinadas realizaciones, la carga del epítipo de célula T CD8+ se fusiona, tanto directamente como indirectamente, con el polipéptido efector de toxina Shiga y/o la región de unión. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular comprende un polipéptido de cadena única que comprende la región de unión, el polipéptido efector de toxina Shiga y la carga del epítipo de célula T CD8+ heterólogo, tal como se expone en las reivindicaciones.

[0255] En determinadas realizaciones, la región de unión comprende dos o más cadenas de polipéptidos y la carga del epítipo de célula T CD8+ heterólogo se fusiona, tanto directamente como indirectamente, con un polipéptido que comprende el polipéptido efector de toxina Shiga y una de las dos o más cadenas de polipéptidos de la región de unión, tal como se expone en las reivindicaciones.

[0256] La molécula de reconocimiento celular de la presente invención definida en las reivindicaciones comprende una carga de epítipo de célula T CD8+ que se posiciona en el extremo carboxi terminal de la molécula de reconocimiento

celular para el extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular comprende dos, tres, cuatro, cinco o más cargas de epítipo de célula T CD8+ heteróloga ubicadas en el extremo carboxi terminal de la molécula de reconocimiento celular para el extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga, tal como se expone en las reivindicaciones.

5 [0257] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular comprende una carga de epítipo de célula T CD8+ heterólogo en el extremo carboxi terminal.

10 [0258] Para determinadas realizaciones, tras la administración de la molécula de reconocimiento celular a una célula diana unida físicamente a una biomolécula diana extracelular de la región de unión, la molécula de reconocimiento celular es capaz de causar la interacción intracelular de la célula diana mediante la célula inmune CD8+.

15 [0259] Para determinadas realizaciones, tras la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una célula diana unida físicamente a una biomolécula diana extracelular de la región de unión, la molécula de reconocimiento celular es capaz de causar la interacción intracelular de la célula diana mediante la célula inmune CD8+. Para determinadas realizaciones adicionales, tras la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una célula diana acoplada físicamente a una biomolécula diana extracelular de la región de unión, la molécula de reconocimiento celular es capaz de causar muerte de la célula diana. Para determinadas realizaciones adicionales la molécula de reconocimiento celular de la presente invención muestra una citotoxicidad que es como mínimo 3 veces superior a una primera población de células cuyos miembros están físicamente unidos a una biomolécula diana extracelular unida mediante la región de unión en comparación con una segunda población de células cuyos miembros no están físicamente unidos a ninguna biomolécula diana extracelular unida a la región de unión. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular comprende o consiste en el polipéptido de cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407, 420-421, 425-429, 459-473 y 656, tal como se enumera en las reivindicaciones; o el polipéptido de cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407 y 656, que comprende adicionalmente un residuo de metionina del extremo amino terminal. En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una mutación que tiene relación con una subunidad A de origen natural de un miembro de la familia de toxina Shiga que cambia la actividad enzimática del polipéptido efector de toxina Shiga, la mutación seleccionada entre como mínimo una eliminación, inserción o sustitución de residuo de aminoácido que reduce o elimina la citotoxicidad del polipéptido efector de toxina. En determinadas realizaciones, la región de unión comprende la carga del epítipo de célula T CD8+, heterólogo, si el epítipo CD8+ - péptido es autógeno o heterólogo en lo que se refiere a la región de unión.

20 25 30 35 [0260] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga se fusiona con una región de unión, tanto directamente como indirectamente, tal como, por ejemplo, a través de un enlazador conocido por el experto.

40 [0261] En realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga.

45 [0262] El polipéptido efector de toxina Shiga comprendido en la molécula de reconocimiento celular de la presente invención definida en las reivindicaciones comprende un motivo de escisión por furina alterado en su extremo carboxi terminal.

50 [0263] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz de mostrar (i) un nivel de actividad catalítica comparable con un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje o un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje, (ii) una actividad de inhibición de ribosoma con un valor de la media de la concentración inhibitoria máxima (IC₅₀) de 10.000 picomolares o inferior y/o (iii) un nivel importante de actividad catalítica de toxina Shiga.

55 [0264] Para realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad con un valor de la media de la concentración inhibitoria máxima (CD₅₀) de 300 nM o inferior y/o es capaz de mostrar un nivel importante de citotoxicidad de toxina Shiga.

60 [0265] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) muestra baja potencia citotóxica (es decir, no es capaz, cuando se introduce en determinados tipos de células diana positivas, de mostrar una citotoxicidad mayor al 1% de muerte celular de una población de células a una concentración de molécula de reconocimiento celular de 1000 nM, 500 nM, 100 nm, 75 nM o 50 nM).

65 [0266] La molécula de reconocimiento celular de la presente invención o un componente de polipéptido de la misma, puede comprender un motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de un miembro de la familia KDEL. Por ejemplo, el motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal se puede seleccionar entre el grupo que consiste en: KDEL (SEQ ID NO:750), HDEF (SEQ ID NO:751), HDEL (SEQ ID NO:752), RDEF (SEQ ID NO:753), RDEL (SEQ ID NO:754), WDEL

(SEQ ID NO:755), YDEL (SEQ ID NO:756), HEEF (SEQ ID NO:757), HEEL (SEQ ID NO:758), KEEL (SEQ ID NO:759), REEL (SEQ ID NO:760), KAEL (SEQ ID NO:761), KCEL (SEQ ID NO:762), KFEL (SEQ ID NO:763), KGEL (SEQ ID NO:764), KEEL (SEQ ID NO:765), KLEL (SEQ ID NO:766), KNEL (SEQ ID NO:767), KQEL (SEQ ID NO:768), KREL (SEQ ID NO:769), KSEL (SEQ ID NO:770), KVEL (SEQ ID NO:771), KWEL (SEQ ID NO:772), KYEL (SEQ ID NO:773), KEDL (SEQ ID NO:774), KIEL (SEQ ID NO:775), DKEL (SEQ ID NO:776), FDEL (SEQ ID NO:777), KDEF (SEQ ID NO:778), KKEL (SEQ ID NO:779), HADL (SEQ ID NO:780), HAEL (SEQ ID NO:781), HIEL (SEQ ID NO:782), HNEL (SEQ ID NO:783), HTEL (SEQ ID NO:784), KTEL (SEQ ID NO:785), HVEL (SEQ ID NO:786), NDEL (SEQ ID NO:787), QDEL (SEQ ID NO:788), REDL (SEQ ID NO:789), RNEL (SEQ ID NO:790), RTDL (SEQ ID NO:791), RTEL (SEQ ID NO:792), SDEL (SEQ ID NO:793), TDEL (SEQ ID NO:794), SKEL (SEQ ID NO:795), STEL (SEQ ID NO:796) y EDEL (SEQ ID NO:797). La molécula de reconocimiento celular de la presente invención puede ser capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad que es superior a la de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una vigésimo segunda molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a la excepción de que no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de la familia KDEL. La molécula de reconocimiento celular de la presente invención puede ser capaz de mostrar una citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, la vigésimo segunda molécula de reconocimiento celular. La citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención para una población de células diana positivas puede ser 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior a la citotoxicidad de la vigésimo segunda molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células diana positivas, tal como se analiza mediante valores CD_{50} .

[0267] El polipéptido efector de toxina Shiga de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención definido en las reivindicaciones comprende un epítipo de célula T CD8+ heterólogo integrado.

[0268] El polipéptido efector de toxina Shiga de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención definido en las reivindicaciones comprende una alteración de como mínimo una región de epítipo de célula B y/o célula T, endógeno que no se sobrepone con el epítipo heterólogo integrado.

[0269] En determinadas realizaciones, el extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga se encuentra en y/o es próximo a un extremo amino terminal de un componente de polipéptido de la molécula de reconocimiento celular. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal de la molécula de reconocimiento celular que tiene relación con el polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se organizan o se orientan físicamente dentro de la molécula de reconocimiento celular de tal modo que la región de unión no se ubica en proximidades al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión se ubica en la molécula de reconocimiento celular más próxima al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga que al extremo amino terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular dada a conocer en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) no es citotóxica y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una vigésimo tercera molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o es próximo al extremo amino terminal de la tercera molécula de reconocimiento celular. Para determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención muestra citotoxicidad con potencia mejor optimizada, citotóxica, tal como, por ejemplo, una citotoxicidad 4 veces, 5 veces, 6 veces, 9 veces o superior en comparación con la citotoxicidad de la vigésimo tercera molécula de reconocimiento celular. Para determinadas realizaciones adicionales, la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención para una población de células diana positivas es 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o superior que la citotoxicidad de la vigésimo tercera molécula de reconocimiento celular para una segunda población de células diana positivas, tal como se analiza mediante valores CD_{50} . En determinadas realizaciones adicionales, la vigésimo tercera molécula de reconocimiento celular no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de la familia KDEL.

[0270] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga dado a conocer en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende adicionalmente una alteración en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situada originalmente que consiste en: 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de

5 cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas realizaciones adicionales de la divulgación, no existe ninguna alteración que es un truncamiento del extremo carboxi terminal de residuos de aminoácidos que se solapa con una parte o todo de como mínimo un epítipo de célula B y/o célula T y/o región de epítipo endógeno, alterado.

10 [0271] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga dado a conocer en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende adicionalmente una mutación, que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje en el residuo de aminoácido inmunogénico de célula B seleccionado entre el grupo de residuos de aminoácidos de subunidad A de toxina Shiga posicionado originalmente: L49, D197, D198, R204 y R205.

15 [0272] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada), el epítipo de célula T integrado o incluido, heterólogo altera la región del epítipo de célula B y/o célula T, endógeno seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situadas originalmente que consiste en: (i) 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID NOs: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma; y (iii) 240-260 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6, o una región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

20 [0273] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una mutación, que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje en la región del epítipo de célula B y/o célula T seleccionada entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga posicionadas originalmente que consiste en: (i) 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma, en donde no existe una alteración que es un truncamiento de extremo amino terminal de secuencias que se sobrepone con una parte o todo de como mínimo una región de epítipo alterado; (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID NO: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o derivado de la misma, en donde no existe una alteración que es un truncamiento de extremo amino terminal de secuencias que se sobrepone con una parte o todo de como mínimo una región de epítipo alterado.

25 [0274] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una alteración de como mínimo una región del epítipo endógeno seleccionada entre el grupo de subunidades A de toxina Shiga situadas originalmente que consiste en: (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID NO: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

30 [0275] En determinadas realizaciones divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el polipéptido efector de toxina Shiga no comprende un epítipo de célula T, limitado a MHC de clase I. Los epítopos de célula T limitados a MHC de clase I se conocen bien en la técnica o se pueden pronosticar por el experto. El término heterólogo hace referencia a epítopos de célula T, limitados a MHC de clase I que no están presentes originalmente en subunidades A de toxina Shiga de tipo salvaje, tales como, por ejemplo, la subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje que tiene la relación más estrecha con el polipéptido efector de toxina Shiga de interés.

35 [0276] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende alteraciones de como mínimo cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más regiones de epítipo de célula B y/o célula T endógenas.

40 [0277] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), una o más alteraciones comprenden una sustitución de residuo de aminoácido que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje.

[0278] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), una o más regiones de epítipo de célula B y/o célula T endógenas comprenden una pluralidad de sustituciones de residuo de aminoácido que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje.

5 [0279] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), como mínimo una, dos, tres o cuatro alteraciones comprenden una pluralidad de sustituciones de residuo de aminoácido en la región de epítipo de célula B y/o célula T, endógeno que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje.

10 [0280] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), como mínimo una alteración comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más sustituciones de residuo de aminoácido que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje y, opcionalmente, en donde como mínimo una sustitución se produce en el residuo de aminoácido de subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje
 15 seleccionado entre el grupo que consiste en: 1 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2; 4 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 6 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 8 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 9 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 11 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 12 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 33 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2; 43 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 44 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 45 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 46 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 47 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 48 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 49 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 50 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 51 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 53 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 54 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 55 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2; 56 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 57 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 58 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 59 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 60 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 61 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 62 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 84 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 88 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 94 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 96 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 104 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 105 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 107 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 108 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 109 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 110 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 111 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 112 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 141 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 147 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 154 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 179 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 180 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 181 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2; 183 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 184 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 185 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 186 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 187 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 188 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 189 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 197 de SEQ ID NO:3; 198 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 204 de SEQ ID NO:3; 205 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 247 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 247 de SEQ ID NO:3; 248 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 250 de SEQ ID NO:3; 251 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 264 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 265 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; y 286 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; o el residuo de aminoácido equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma. En determinadas realizaciones adicionales, como mínimo dos alteraciones cada una comprende sustituciones de como mínimo un residuo de aminoácido que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje forman el grupo que consiste en: 1 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2; 4 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 8 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 9 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 11 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 33 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 43 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 45 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2; 47 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2; 48 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 49 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 53 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 55 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 58 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 59 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 60 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 61 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 62 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 94 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 96 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 109 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 110 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 112 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 147 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 179 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 180 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 181 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 183 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 184 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 185 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 186 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 187 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 188 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 189 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 204 de SEQ ID NO:3; 205 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 247 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; 247 de SEQ ID NO:3; 250 de SEQ ID NO:3; 264 de SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, o SEQ ID NO:3; 265 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; y 286 de SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2; o el residuo de aminoácido equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

60 [0281] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una alteración de como mínimo tres regiones del epítipo de célula B y/o célula T endógeno seleccionadas entre el grupo que consiste en: (i) 1-15 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma, en donde no existe una alteración que es un truncamiento de extremo amino terminal de residuos de aminoácido que se superponen con una parte o todo de como mínimo una región de epítipo de célula

B y/o célula T, endógeno, alterado; (ii) 94-115 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; 141-153 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID Nos: 3; 205 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18, o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma, en donde no existe una alteración que es un truncamiento de extremo carboxi terminal de residuos de aminoácido que se sobreponen con una parte o todo de como mínimo un epítipo y/o una región de epítipo de célula B y/o célula T, endógeno, alterado.

[0282] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende alteraciones de como mínimo dos regiones del epítipo de célula B y/o célula T endógeno en donde cada alteración comprende una o más sustituciones de residuo de aminoácido y en donde las regiones de epítipo de célula B y/o célula T, endógeno seleccionadas entre el grupo de regiones de subunidad A de toxina Shiga situadas originalmente que consisten en: 3-14 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de SEQ ID NOs: 3 y 7-18; 53-66 de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-18; o la región equivalente en una subunidad A de toxina Shiga o un derivado de la misma.

[0283] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el epítipo de célula T, heterólogo, integrado o incluido, no altera ninguna región de epítipo de célula B y/o célula T CD4+, endógeno descrita en el presente documento.

[0284] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), como mínimo una alteración comprende una o más sustituciones de residuo de aminoácido que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje se selecciona entre el grupo que consiste en: D para A, D para G, D para V, D para L, D para I, D para F, D para S, D para Q, D para M, D para R, E para A, E para G, E para V, E para L, E para I, E para F, E para S, E para Q, E para N, E para D, E para M, E para R, F para A, F para G, F para V, F para L, F para I, G para A, G para P, H para A, H para G, H para V, H para L, H para I, H para F, H para M, I para A, I para V, I para G, I para C, K para A, K para G, K para V, K para L, K para I, K para M, K para H, L para A, L para V, L para G, L para C, N para A, N para G, N para V, N para L, N para I, N para F, P para A, P para G, P para F, R para A, R para G, R para V, R para L, R para I, R para F, R para M, R para Q, R para S, R para K, R para H, S para A, S para G, S para V, S para L, S para I, S para F, S para M, T para A, T para G, T para V, T para L, T para I, T para F, T para M, T para S, V para A, V para G, Y para A, Y para G, Y para V, Y para L, Y para I, Y para F, Y para M e Y para T. En determinadas realizaciones adicionales de la divulgación, una o más sustituciones de residuo de aminoácido que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje se selecciona entre el grupo que consiste en: D para A, D para G, D para V, D para L, D para I, D para F, D para S, D para Q, E para A, E para G, E para V, E para L, E para I, E para F, E para S, E para Q, E para N, E para D, E para M, E para R, G para A, H para A, H para V, H para L, H para I, H para F, H para M, K para A, K para G, K para V, K para L, K para I, K para M, K para H, L para A, L para G, N para A, N para G, N para V, N para L, N para I, N para F, P para A, P para G, P para F, R para A, R para G, R para V, R para L, R para I, R para F, R para M, R para Q, R para S, R para K, R para H, S para A, S para G, S para V, S para L, S para I, S para F, S para M, T para A, T para G, T para V, T para L, T para I, T para F, T para M, T para S, Y para A, Y para G, Y para V, Y para L, Y para I, Y para F e Y para M.

[0285] En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), como mínimo una de las alteraciones comprende una o más sustituciones de residuo de aminoácido que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje seleccionada entre el grupo que consiste en: K1 para A, G, V, L, I, F, M y H; T4 para A, G, V, L, I, F, M y S; D6 para A, G, V, L, I, F, S, Q y R; S8 para A, G, V, I, L, F y M; T9 para A, G, V, I, L, F, M y S; S9 para A, G, V, L, I, F y M; K11 para A, G, V, L, I, F, M y H; T12 para A, G, V, I, L, F, M, S y K; S12 para A, G, V, I, L, F y M; S33 para A, G, V, L, I, F, M y C; S43 para A, G, V, L, I, F y M; G44 para A o L; S45 para A, G, V, L, I, F y M; T45 para A, G, V, L, I, F y M; G46 para A y P; D47 para A, G, V, L, I, F, S, M y Q; N48 para A, G, V, L, M y F; L49 para A, V, C y G; Y49 para A, G, V, L, I, F, M y T; F50 para A, G, V, L, I y T; A51 ; D53 para A, G, V, L, I, F, S y Q; V54 para A, G, I y L; R55 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; G56 para A y P; I57 para A, G, V y M; L57 para A, V, C, G, M y F; D58 para A, G, V, L, I, F, S y Q; P59 para A, G y F; E60 para A, G, V, L, I, F, S, Q, N, D, M, T y R; E61 para A, G, V, L, I, F, S, Q, N, D, M y R; G62 para A; R84 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; V88 para A y G; I88 para A, V, C y G; D94 para A, G, V, L, I, F, S y Q; S96 para A, G, V, I, L, F y M; T104 para A, G, V, L, I, F, M; y N; A105 para L; T107 para A, G, V, L, I, F, M y P; S107 para A, G, V, L, I, F, M y P; L108 para A, V, C y G; S109 para A, G, V, I, L, F y M; T109 para A, G, V, I, L, F, M y S; G110 para A; S112 para A, G, V, L, I, F y M; D111 para A, G, V, L, I, F, S, Q y T; S112 para A, G, V, L, I, F y M; D141 para A, G, V, L, I, F, S y Q; G147 para A; V154 para A y G. R179 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; T180 para A, G, V, L, I, F, M y S; T181 para A, G, V, L, I, F, M y S; D183 para A, G, V, L, I, F, S y Q; D184 para A, G, V, L, I, F, S y Q; L185 para A, G, V y C; S186 para A, G, V, I, L, F y M; G187 para A; R188 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; S189 para A, G, V, I, L, F y M; D197 para A, G, V, L, I, F, S y Q; D198 para A, G, V, L, I, F, S y Q; R204 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; R205 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; S247 para A, G, V, I, L, F y M; Y247 para A, G, V, L, I, F y M; R248 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; R250 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; R251 para A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; D264 para A, G, V, L, I, F, S y Q; G264 para A; y T286 para A, G, V, L, I, F, M y S.

[0286] Para realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz,

cuando se introduce en un cordato, de mostrar tolerabilidad y/o estabilidad mejorada *in vivo* en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una vigésimo cuarta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de que todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje en el extremo carboxi terminal de su región del fragmento A1. En determinadas realizaciones adicionales de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el polipéptido efector de toxina Shiga no es citotóxico y la fracción molecular es citotóxica.

[0287] En determinadas realizaciones, la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga se juntan, tanto directamente como indirectamente.

[0288] En determinadas realizaciones, la región de unión comprende como mínimo un péptido y/o polipéptido. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión es o comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión comprende un polipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en: un dominio V_H autónomo, un fragmento de anticuerpo de dominio único (sdAb), un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un camélido (fragmento de dominio V_{HH} o V_H), un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un pez cartilaginoso (fragmento de dominio V_{HH} o V_H), un receptor de antígeno nuevo de inmunoglobulina (IgNAR), un fragmento VNAR, un fragmento variable de cadena única (scFv), un fragmento variable de anticuerpo (Fv), un fragmento de región 3 determinante complementaria (CDR3), un polipéptido de FR3-CDR3-FR4 limitado, un fragmento Fd, un fragmento de unión al antígeno (Fab), un polipéptido de repetición Armadillo (ArmRP), 10 dominio de fibronectina de tipo III derivado de fibronectina (10Fn3), un dominio de tenascina de tipo III (TNfn3), un dominio de motivo de repetición de anquirina, un dominio A derivado de receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR-A), una lipocalina (anticalina), un dominio de Kunitz, un dominio Z derivado de la proteína A, un dominio derivado de gamma-B cristalina, un dominio derivado de ubiquitina, un polipéptido derivado de Sac7d (afitina), un dominio SH2 derivado de Fyn, una miniproteína, un esqueleto de dominio similar a lectina del tipo C y cualquier equivalente manipulado genéticamente de cualquiera de los anteriores que retiene funcionalidad de unión, tal como se dicta en las reivindicaciones.

[0289] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz de mostrar (i) un nivel de actividad catalítica comparable con un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje o un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje, (ii) una actividad de inhibición de ribosoma con un valor de la media de la concentración inhibitoria máxima (IC_{50}) de 10.000 picomolares o inferior y/o (iii) un nivel importante de actividad catalítica de toxina Shiga.

[0290] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención y/o su polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de mostrar eficiencia de recorrido subcelular en comparación con una molécula de reconocimiento celular de referencia que comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje o polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje y/o es capaz de mostrar un nivel importante de actividad de recorrido intracelular para el retículo endoplasmático y/o el citosol desde una ubicación inicial endosómica de la una célula.

[0291] Para determinadas realizaciones, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una célula acoplada físicamente a la biomolécula diana extracelular de la región de unión de molécula de reconocimiento celular, la molécula de reconocimiento celular es capaz de causar muerte de la célula. En determinadas realizaciones adicionales, la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a dos poblaciones diferentes de tipos de células que se difieren en lo que respecta a la presencia o el nivel de la biomolécula diana extracelular, la molécula de reconocimiento celular es capaz de causar muerte celular a los tipos de células acopladas físicamente a una biomolécula diana extracelular de la región de unión de molécula de reconocimiento celular citotóxica a una concentración de CD_{50} de como mínimo tres veces o inferior a la CD_{50} para los tipos de células que no se acoplan de manera física a una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular. Para determinadas realizaciones la molécula de reconocimiento celular de la presente invención muestra una citotoxicidad que es como mínimo 3 veces superior a una primera población de células cuyos miembros están físicamente unidos a una biomolécula diana extracelular unida mediante la región de unión de molécula de reconocimiento celular en comparación con una segunda población de células cuyos miembros no están físicamente unidos a ninguna biomolécula diana extracelular unida mediante la región de unión. Para realizaciones determinadas, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una primera población de células cuyos miembros se acoplan físicamente a una cantidad importante de las biomoléculas diana extracelulares de la región de unión de molécula de reconocimiento celular y una segunda población de células cuyos miembros no se acoplan físicamente a una cantidad importante de ninguna biomolécula diana extracelular de la región de unión, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular para los miembros de dicha primera población de células que tiene relación con los miembros de dicha segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor. Para realizaciones determinadas, conforme las cuales la administración de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención a una primera población de células positivas de biomolécula diana y una segunda población de células cuyos miembros no expresan una cantidad importante de una biomolécula diana de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular en una superficie celular, el efecto citotóxico de la molécula de reconocimiento celular para los miembros de la primera población de células que tiene relación con los miembros de la segunda población de células es como mínimo 3 veces mayor.

[0292] Para realizaciones determinadas la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad con un valor de la media de la concentración inhibitoria máxima (CD₅₀) de 300 nM o inferior y/o es capaz de mostrar un nivel importante de citotoxicidad de toxina Shiga.

5 [0293] Para realizaciones determinadas, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz de administrar un epítipo de célula T CD8+ heterólogo integrado o incluido a una vía de presentación de MHC de clase I de una célula para la presentación en la superficie celular del epítipo unido por una molécula de MHC de clase I.

10 [0294] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular comprende una fracción molecular asociada al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones, la fracción molecular comprende o consiste en la región de unión. En determinadas realizaciones, la fracción molecular comprende como mínimo un aminoácido y el polipéptido efector de toxina Shiga se une a como mínimo un residuo de aminoácido de la fracción molecular. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular y el polipéptido efector de toxina Shiga se fusionan para formar un polipéptido continuo.

15 [0295] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular comprende adicionalmente una fracción molecular citotóxica asociada al extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga. Para determinadas realizaciones, la fracción molecular citotóxica es un agente citotóxico, tal como, por ejemplo, un agente quimioterapéutico de molécula pequeña, un agente antineoplásico, un antibiótico citotóxico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor de topoisomerasa y/o un inhibidor de tubulina que un experto conoce y/o se describen en el presente documento. Para determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular citotóxica es citotóxica a concentraciones inferiores a 10.000, 5.000, 1.000, 500 o 200 pM.

25 [0296] En determinadas realizaciones, la región de unión es capaz de unirse a una biomolécula diana extracelular seleccionada entre el grupo que consiste en: CD20, CD22, CD40, CD74, CD79, CD25, CD30, HER2/neu/ErbB2, EGFR, EpCAM, EphB2, antígeno de membrana específico de próstata, Cripto, CDCP1, endoglina/CD105, proteína de activación de fibroblasto, Lewis-Y, CD19, CD21, CS1/ SLAMF7, CD33, CD52, CD 133, gpA33, mucina, TAG-72, receptor de transmembrana de proteína tirosina cinasa (ROR1 o NTRKR1), anhidrasa carbónica IX, proteína de unión a folato, gangliósido GD2, gangliósido GD3, gangliósido GM2, gangliósido Lewis-Y2, VEGFR, Alfa Vbeta3, Alfa5beta1, ErbB1/EGFR, Erb3, c-MET, IGF1R, EphA3, TRAIL- R1, TRAIL-R2, RANK, tenascina, CD64, mesotelina, BRCA1, MART-1/MelanA, gp100, tirosinasa, TRP-1, TRP-2, MAGE- 1, MAGE-3, GAGE-1/2, BAGE, RAGE, NY-ESO-1, CDK-4, beta-catenina, MUM-1, caspasa-8, KIAA0205, HPV6, SART- 1, PRAME, antígeno carcinoembrionario, antígeno específico de próstata, antígeno de células madre de próstata, aspartilo humano (asparaginilo), beta-hidroxilasa, EphA2, HER3/ErbB-3, MUC1, antígeno asociado a tirosinasa, HPV-E7, antígeno del virus de Epstein-Barr, Bcr-Abl, antígeno de alfa-fetoproteína, 17-A1, antígeno de tumor de vejiga, SAIL, CD38, CD15, CD23, CD45 (receptor de proteína tirosina fosfatasa del tipo C), CD53, CD88, CD129, CD183, CD191, CD193, CD244, CD294, CD305, C3AR, FcεR1a, galectina-9, IL-1R (receptor de interleucina-1), mrp-14, ligando de NKG2D, ligando 1 de muerte programada (PD-L1), Siglec-8, Siglec-10, CD49d, CD13, CD44, CD54, CD63, CD69, CD123, TLR4, IgE, CD107a, CD203c, CD14, CD68, CD80, CD86, CD115, F4/80, ILT-3, galectina-3, CD11a-c, GITRL, molécula de MHC de clase I, molécula de MHC de clase II (opcionalmente en complejo con un péptido), CD284 (TLR4), CD 107-Mac3, CD195 (CCR5), HLA-DR, CD16/32, CD282 (TLR2), CD11c y cualquier fragmento inmunogénico de cualquiera de los anteriores, tal como se enumera en las reivindicaciones.

45 [0297] En determinadas realizaciones, la región de unión se une, tanto directamente como indirectamente, al polipéptido efector de toxina Shiga mediante como mínimo un enlace covalente que no es un enlace de disulfuro. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión se fusiona, tanto directamente como indirectamente, con el extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga para formar un polipéptido único, continuo. En determinadas realizaciones, la región de unión es una región de unión de tipo inmunoglobulina.

50 [0298] En determinadas realizaciones, el motivo de escisión por furina alterado comprende una o más mutaciones en el sitio de escisión por furina mínimo que tiene relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas realizaciones de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado no es un truncamiento del extremo amino terminal de secuencias que se superponen con una parte o todo de como mínimo un residuo de aminoácido del sitio de escisión por furina mínimo. En determinadas realizaciones de la divulgación, la mutación en el sitio de escisión por furina mínima es una supresión de aminoácido, inserción y sustitución de como mínimo un residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina R/Y-x-x-R. En determinadas realizaciones adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina alterado comprende como mínimo una mutación, que tienen relación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, la mutación que altera como mínimo un residuo de aminoácido en un región ubicado originalmente en la posición 248-251 de la subunidad A de toxina Shiga (SEQ ID NOs: 1-2 y 4-6), o en 247-250 de la subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NOs: 3 y 7-18), o la posición de secuencia de aminoácidos equivalente en cualquiera subunidad A de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales de la divulgación, la mutación es una sustitución del residuos de aminoácido en un residuo de arginina por un residuo de aminoácido cargado no positivamente.

65 [0299] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención es capaz,

cuando se introduce en las células, de mostrar una citotoxicidad comparable a una citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una vigésimo quinta molécula de reconocimiento celular que consiste en la molécula de reconocimiento celular a excepción de que todos sus componentes de polipéptido efector de toxina Shiga, cada uno comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje.

5 [0300] En determinadas realizaciones, una o más región(es) de unión comprende el péptido o el polipéptido mostrado en cualquiera de SEQ ID NOs: 39-245, tal como se dicta en las reivindicaciones.

10 [0301] En determinadas realizaciones, dos o más regiones de unión comprenden el péptido o el polipéptido mostrado en cualquiera de SEQ ID NOs: 39-245. En determinadas realizaciones adicionales, cada una de dos o más regiones de unión comprende el mismo péptido o el polipéptido mostrado en cualquiera de SEQ ID NOs: 39-245.

15 [0302] El polipéptido efector de toxina Shiga de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende la SEQ ID NO: 30, tal como se dicta en las reivindicaciones. Determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprenden la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 39-245, tal como se dicta en las reivindicaciones.

20 [0303] Determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprenden o consisten en el polipéptido representado por la secuencia de aminoácidos mostrada en cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407, 420-421, 425-429, 459-473 y 656 tal como se enumera en las reivindicaciones o el polipéptido de cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407 y 656, que comprende adicionalmente un residuo de metionina del extremo amino terminal.

25 [0304] En determinadas realizaciones, como mínimo una región de unión cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1.

[0305] En determinadas realizaciones, la fracción molecular cubre estéricamente el extremo carboxi terminal de la región del fragmento A1. En determinadas realizaciones adicionales, la fracción molecular comprende la región de unión.

30 [0306] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende una región de unión y/o fracción molecular ubicada en el extremo carboxi terminal con los extremos carboxi terminales de la región del fragmento A1 de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, la masa de la región de unión y/o la fracción molecular es como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, kDa, 28 kDa, 30 kDa, 35 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior.

[0307] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular comprende una región de unión de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento (por ejemplo, citotoxicidad y/o recorrido intracelular).

40 [0308] En determinadas realizaciones, la región de unión se comprende en una fracción molecular relativamente más grande que comprende tal como, por ejemplo, una fracción molecular con una masa de como mínimo 4,5 kDa, 6 kDa, 9 kDa, 12 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 28 kDa, 30 kDa, 41 kDa, 50 kDa, 100 kDa o superior, siempre y cuando la molécula de reconocimiento celular retenga el nivel adecuado de la actividad biológica de toxina Shiga señalado en el presente documento.

45 [0309] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) muestra baja potencia citotóxica (es decir, no es capaz, cuando se introduce en determinados tipos de células diana positivas, de mostrar una citotoxicidad mayor al 1% de muerte celular de una población de células a una concentración de molécula de reconocimiento celular de 1000 nM, 500nM, 100 nM, 75 nM, or 50 nM) y es capaz, cuando se introduce en las células, de mostrar una eficiencia de recorrido subcelular mayor desde un espacio extracelular a un compartimento subcelular de un retículo endoplasmático y/o citosol en comparación con la citotoxicidad de una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una vigésimo sexta molécula de reconocimiento celular que tiene un extremo amino terminal y que comprende la región de unión y el polipéptido efector de toxina Shiga, que no se posiciona en o es próximo al extremo amino terminal de la tercera molécula de reconocimiento celular. En determinadas realizaciones adicionales, la vigésimo sexta molécula de reconocimiento celular no comprende ningún motivo de señal de retención/ recuperación de retículo endoplasmático en el extremo carboxi terminal de la familia KDEL.

60 [0310] En determinadas realizaciones, la fracción molecular comprende un péptido y/o un polipéptido derivado del fragmento A2 de toxina Shiga de una toxina Shiga de origen natural.

65 [0311] Las realizaciones de la presente invención no pretenden cubrir ninguna subunidad A de holotoxina Shiga o toxina Shiga de origen natural. En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende una subunidad B de toxina Shiga de origen natural. En determinadas realizaciones

adicionales, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende ningún polipéptido que comprende o consiste esencialmente en un dominio de unión funcional de una subunidad B de toxina Shiga nativa. Más bien, en determinadas realizaciones de las moléculas de reconocimiento celular de la presente invención, las regiones derivadas de subunidad A de toxina Shiga se asocian de manera funcional con regiones de unión heterólogas para efectuar el reconocimiento celular.

[0312] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención se limita por la condición de que la carga del epítipo de célula T CD8+ heterólogo no comprende o no consiste en el polipéptido mostrado en SEQ ID NO:25. La molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende el polipéptido efector de toxina Shiga que comprende el epítipo de célula T CD8-péptido GILGFVFTL (SEQ ID NO:25) incluido en la posición 53 original en SLT-1A (SEQ ID NO:1). En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención se limita por la condición de que la molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende el polipéptido mostrado en SEQ ID NO:25. En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada), la molécula de reconocimiento celular se limita por la condición de que la molécula de reconocimiento celular no comprende ningún polipéptido efector de toxina Shiga que comprende cualquier epítipo de célula T CD8+, incluido o incluido para todas las variantes descritas anteriormente de los Conjuntos #1 hasta #20.

[0313] En determinadas realizaciones de la divulgación la molécula de reconocimiento celular de la presente invención está limitada por la condición de que la molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende el enlazador mostrado en SEQ ID NO:247, en donde el enlazador se fusiona, tanto directamente como indirectamente, entre una región de unión y un polipéptido efector de toxina Shiga y en donde la región de unión se ubica en el extremo amino terminal para el polipéptido efector de toxina Shiga para todas las modificaciones descritas anteriormente de los Conjuntos #1 hasta #20. En determinadas realizaciones de la divulgación, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención se limita por la condición de que la molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende el enlazador mostrado en SEQ ID NO:247 en donde el enlazador se fusiona entre una región de unión y un polipéptido efector de toxina Shiga para todas las modificaciones descritas anteriormente de los Conjuntos #1 hasta #20.

[0314] La molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende o no consiste esencialmente en el polipéptido expuesto en cualquiera de SEQ ID NOs: 259-278 y 287.

[0315] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación no comprende ninguna carga de epítipo de célula T CD8+, heterólogo fusionada entre una región de unión y un polipéptido efector de toxina Shiga en donde la región de unión se ubica en el extremo amino terminal para el efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación no comprende ninguna carga de epítipo de célula T CD8+, heterólogo fusionada entre una región de unión y un polipéptido efector de toxina Shiga.

[0316] Para determinadas realizaciones, la célula diana no es una célula presentadora de antígeno profesional, tal como un tipo de célula dendrítica. Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la biomolécula diana extracelular de la región de unión no se expresa por una célula presentadora de antígeno profesional. Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la biomolécula diana extracelular de la región de unión no está unida de manera física en cantidades importantes con una célula presentadora de antígeno profesional. Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la biomolécula diana extracelular de la región de unión no está unida de manera física con una célula presentadora de antígeno profesional. Para determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la biomolécula diana de la región de unión no se expresa en cantidades importantes sobre la superficie celular de ninguna célula presentadora de antígeno profesional en el sujeto cordato para ser tratado.

[0317] Tal como se define en las reivindicaciones, la carga del epítipo de célula T CD8+, heterólogo se posiciona en el extremo carboxi-terminal para los extremos carboxi terminales del polipéptido efector de toxina Shiga.

[0318] En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende un fragmento de CD4 humano que corresponde a residuos de aminoácidos 19-183. En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende un fragmento de CD4 humano, una glicoproteína de transmembrana del tipo I. En determinadas realizaciones adicionales, la región de unión no comprende un fragmento de un co-receptor de superficie celular inmune, humano.

[0319] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende una región de unión en el extremo carboxi terminal que comprende un fragmento de un receptor de superficie celular inmune.

[0320] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende como mínimo dos epítopos heterólogos, integrados o incluidos.

[0321] El polipéptido efector de toxina Shiga no comprende el conjunto de sustituciones de residuos de aminoácidos que tiene relación con la subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje seleccionado entre los siguientes conjuntos: (1) R248H y R251H; (2) R248G y R251G; (3) A246G, S247A, A253G y S254A; y (4) A246G, S247A, R248G, R251G, A253G y S254A.

[0322] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) no comprende una eliminación de la región posicionada originalmente en 247-252 en una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas realizaciones de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada), el polipéptido efector de toxina Shiga no comprende eliminaciones de las regiones posicionadas originalmente en 245-247 y 253-255 en una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje.

[0323] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una o más mutaciones que tienen relación con una subunidad A de origen natural de un miembro de la familia de toxina Shiga que cambia la actividad enzimática del polipéptido efector de toxina Shiga, la mutación seleccionada entre como mínimo una eliminación, inserción o sustitución de residuo de aminoácido. La mutación que tiene relación con la subunidad A de origen natural reduce o elimina la actividad citotóxica del polipéptido efector de toxina Shiga, pero el polipéptido efector de toxina Shiga retiene como mínimo una otra función efectora de toxina Shiga, tal como, por ejemplo, fomentar la internalización celular y/o dirigir el recorrido intracelular hacia un compartimento(s) subcelular(es). En determinadas realizaciones adicionales (que no forman parte de la presente invención reivindicada), la mutación que tiene relación con la subunidad A de origen natural se selecciona entre como mínimo una sustitución de residuo de aminoácido, tal como, por ejemplo, A231E, N75A, Y77S, Y114S, E167D, R170A, R176K, W202A y/o W203A en SEQ ID NO:1-18.

[0324] Para determinadas realizaciones, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de: (i) hacer recorrido hacia un compartimento subcelular de una célula en la que está presente el polipéptido efector de toxina Shiga seleccionado entre los siguientes: citosol, retículo endoplasmático y lisosoma; (ii) administración intracelular de epítipo-carga desde una compartimento endosómico inicial a un proteosoma de una célula en la que está presente el polipéptido efector de toxina Shiga; y/o (iii) administración intracelular del epítipo a una molécula de MHC de clase I desde una compartimento endosómico inicial a una célula en la que está presente el polipéptido efector de toxina Shiga. En determinadas realizaciones adicionales, el polipéptido efector de toxina Shiga es capaz de administración intracelular del epítipo de célula T CD8+ para ser presentado por una molécula de MHC de clase I sobre la superficie de una célula en la que está presente el polipéptido efector de toxina Shiga.

[0325] En determinadas realizaciones, la molécula de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) no comprende, en una posición del extremo carboxi terminal del polipéptido efector de toxina Shiga y/o el extremo carboxi terminal de la región de fragmento A1 de toxina Shiga, ningún material exógeno adicional que representa un antígeno y/o carga de epítipo-peptido de célula T, CD8+, heterólogo.

[0326] En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende un ligando. En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende una quimiocina o un ligando que induce apoptosis relacionada con TNF (TRAIL) ni un fragmento de unión a receptor del mismo. En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende una quimiocina humana o un TRAIL humano ni un fragmento de unión a receptor del mismo. En determinadas realizaciones, la región de unión de tipo inmunoglobulina no comprende un ligando ni un fragmento de unión a receptor del mismo. En determinadas realizaciones, la región de unión tipo inmunoglobulina no comprende una quimiocina o un ligando que induce apoptosis relacionada con TNF (TRAIL) ni un fragmento de unión a receptor del mismo. En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende una quimiocina CC humana ni un fragmento de unión a receptor de la misma. En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende una quimiocina CC humana CCL2 (véase, Bose Set al., Arch Pharm Res 36: 1039-50 (2013)). En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende la quimiocina CC humana CCL2 ni un fragmento de unión al receptor de la misma, y un polipéptido efector de toxina Shiga en el extremo carboxi terminal que consiste en aminoácidos 75-247 de StxA. En determinadas realizaciones de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, la región de unión no comprende la quimiocina CC humana CCL2 ni un fragmento de unión al receptor de la misma, fusionado a un polipéptido efector de toxina Shiga en el extremo carboxi terminal que consiste en aminoácidos 75-247 de StxA (SEQ ID NO:2). En determinadas realizaciones, la región de unión no comprende el TRAIL humano ni un fragmento de unión a receptor del mismo.

[0327] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención comprende o consiste en el polipéptido de cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407, 420-421, 425-429, 459-473 y 656, tal como se enumera en las reivindicaciones; o el polipéptido de cualquiera de SEQ ID NOs: 389-404, 407 y 656, que comprende adicionalmente un residuo de metionina del extremo amino terminal, tal como se enumera en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende SEQ ID NO:25 y/o SEQ ID NO:247.

[0328] La molécula de reconocimiento celular de la presente invención no comprende o no consiste esencialmente en el polipéptido expuesto en SEQ ID NO:287.

5 [0329] La presente invención da a conocer también una composición farmacéutica tal como se define en las reivindicaciones que comprende una molécula de reconocimiento celular de la presente invención y como mínimo un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable; y el uso de tal molécula de reconocimiento celular o una composición que la comprende, tal como se describe en el presente documento a continuación. Determinadas realizaciones de la presente invención son composiciones farmacéuticas que comprenden cualquier molécula de reconocimiento celular de la presente invención; y como mínimo un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable, tal como se define en las reivindicaciones.

10 [0330] La presente divulgación describe una composición diagnóstica (que no forma parte de la presente invención reivindicada) que comprende cualquiera de las moléculas de reconocimiento celular mencionadas anteriormente de la presente invención y un agente promotor de detección para la recopilación de información, tal como información útil diagnósticamente sobre un tipo de célula, tejido, órgano, enfermedad, trastorno, condición y/o paciente. Determinadas realizaciones adicionales divulgación son moléculas de reconocimiento celular de la presente invención en donde el agente promotor de detección es una carga de epítipo heterólogo y la molécula de reconocimiento celular comprende la carga del epítipo heterólogo.

20 [0331] Más allá de las moléculas de reconocimiento celular y composición farmacéutica de la presente invención, un polinucleótido capaz de codificar una molécula de reconocimiento celular de la presente invención se encuentra en el ámbito de la presente invención, así como un vector de expresión que comprende un polinucleótido de la presente invención y una célula huésped que comprende un vector de expresión de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones. Las células huésped que comprenden un vector de expresión se pueden utilizar, por ejemplo, en los procedimientos de producción de una molécula de reconocimiento celular de la presente invención o un componente de proteína o fragmento de la misma mediante expresión recombinada.

25 [0332] La presente divulgación abarca también cualquier composición de interés de la presente invención que se inmoviliza en un sustrato sólido. Tales mecanismos de las composiciones de interés se pueden utilizar, por ejemplo, en los procedimientos de investigación de moléculas tal como se describe en el presente documento.

30 [0333] Entre determinadas realizaciones de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) se encuentra el procedimiento *in vitro* de administración de una carga de epítipo de célula T CD8+ a una molécula de MHC de clase I de una célula, el procedimiento comprende la etapa de realización de contacto entre la célula con la molécula de reconocimiento celular de la presente invención y/o una composición farmacéutica de la presente invención.

35 [0334] La presente divulgación describe un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de inducción de una célula de presentar una carga de epítipo de célula T CD8+ administrada de manera exógena en ligada a una molécula de MHC de clase I, el procedimiento comprende la etapa de realización de contacto entre la célula, o *in vitro* o *in vivo*, con la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, que comprende el epítipo de célula T CD8+ y/o una composición del mismo (por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende una molécula de reconocimiento celular de la presente invención).

40 [0335] La presente divulgación describe un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de inducción de una respuesta inmune para una célula diana a través de un complejo de molécula de MHC de clase I con epítipo de célula T CD8+, el procedimiento comprende la etapa de realización de contacto entre la célula diana, tanto *in vitro* como *in vivo*, con la molécula de reconocimiento celular de la presente invención, que comprende el epítipo de célula T CD8+ como una carga y/o una composición del mismo (por ejemplo, una composición farmacéutica o diagnóstica que comprende dicha molécula de reconocimiento celular de la presente invención). La respuesta inmune se puede seleccionar entre el grupo que consiste en: secreción de células inmunes CD8+ de una citocina(s), detención del crecimiento inducida por linfocito T citotóxico (CTL) en la célula diana, necrosis inducida por CTL de la célula diana, apoptosis inducida por CTL de la célula diana, eliminación celular mediada por células inmunes de una célula distinta a la célula diana.

45 [0336] La presente divulgación describe un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de causar interacción intracelular entre una célula inmune CD8+ y una célula diana, el procedimiento comprende la etapa de realización de contacto entre la célula diana con la molécula de reconocimiento celular de la presente invención en presencia de una célula inmune CD8+ con la posterior etapa de realización de contacto entre la célula diana y una o más células inmunes CD8+. La etapa de realización de contacto se puede llevar a cabo *in vitro*. La etapa de realización de contacto se puede llevar a cabo *in vivo*, tal como, por ejemplo, mediante la administración de la molécula de reconocimiento celular a un cordato, vertebrado y/o mamífero. La interacción intercelular se puede llevar a cabo *in vitro*. La interacción intercelular se puede llevar a cabo *in vivo*.

50 [0337] La presente divulgación describe una composición que comprende una molécula de reconocimiento celular de la presente invención para el «sembrado» de un locus de tejido en un cordato.

55 [0338] La presente invención proporciona adicionalmente la molécula de reconocimiento celular o la composición

farmacéutica de la presente invención para ser utilizada en el tratamiento de una enfermedad, un trastorno o una condición en un paciente, en donde la molécula de reconocimiento celular o la composición farmacéutica sirve para la administración mediante el «sembrado» de locus de tejido en un cordato. Para determinadas realizaciones adicionales, el locus de tejido en un cordato comprende un tejido maligno, enfermo y/o inflamado. Para determinadas realizaciones adicionales, el locus de tejido en un cordato comprende el tejido seleccionado entre el grupo que consiste en: tejido enfermo, masa tumoral, crecimiento cancerígeno, tumor, tejido infectado o masa celular anormal. Para determinadas realizaciones, la carga de epítipo de célula T CD8+ comprendida en la molécula de reconocimiento celular se selecciona entre el grupo que consiste en: péptidos que no exponen originalmente en un complejo de MHC de clase I mediante las células del locus de tejido que se reconocen por la molécula de reconocimiento celular, péptidos que no están originalmente presentes en ninguna proteína expresada por las células del locus de tejido que se reconocen por la molécula de reconocimiento celular, péptidos que no están originalmente presentes en la proteoma de las células del locus de tejido que se reconocen por la molécula de reconocimiento celular, péptidos que no están originalmente presentes en el microambiente extracelular del locus de tejido que está siendo sembrado y péptidos que no están originalmente presentes en la masa tumoral o el sitio de tejido infectado que se reconoce por la molécula de reconocimiento celular.

[0339] Adicionalmente, la presente divulgación proporciona un procedimiento *in vitro* de eliminación de una célula(s) (que no forma parte de la presente invención reivindicada), que comprende la etapa de realización de contacto de una célula(s) con una molécula de reconocimiento celular de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende una molécula de reconocimiento celular de la presente invención. Para realizaciones adicionales de los procedimientos de eliminación celular, el procedimiento es capaz de eliminar de manera selectiva célula(s) y/o tipos de células de manera preferencial sobre otras célula(s) y/o tipos de células, cuando se realiza el contacto entre una mezcla de células que es diferente en lo que respecta a la presencia extracelular y/o nivel de expresión de una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular.

[0340] La presente invención proporciona adicionalmente una molécula de reconocimiento celular de acuerdo con la presente invención para ser utilizada en el tratamiento de una enfermedad en un paciente que lo necesita utilizando una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de reconocimiento celular o una composición farmacéutica de la presente invención, tal como se define en las reivindicaciones. Para determinadas realizaciones, la enfermedad a tratar se selecciona entre: un cáncer, una anomalía de crecimiento, un trastorno inmune o una infección microbiana. Para determinadas realizaciones, el cáncer a tratar se selecciona entre el grupo que consiste en: cáncer óseo, cáncer de pecho, cáncer del sistema central/periférico nervioso, cáncer gastrointestinal, cáncer de células germinales, cáncer de glándula, cáncer de cabeza-cuello, cáncer hematológico, cáncer de riñón-tracto urinario, cáncer de hígado, cáncer pulmonar/ de pleura, cáncer de próstata, sarcoma, cáncer de piel y cáncer de útero, tal como se enumera en las reivindicaciones. Para determinadas realizaciones, el trastorno inmune a tratar es un trastorno inmune asociado a una enfermedad que se selecciona entre el grupo que consiste en: amiloidosis, espondilitis anquilosante, asma, enfermedad de Crohn, diabetes, rechazo al injerto, enfermedad de injerto contra huésped, tiroiditis de Hashimoto, síndrome urémico hemolítico, enfermedad que tiene relación con VIH, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, poliarteritis nudosa, poliartritis, psoriasis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, esclerodermia, choque séptico, síndrome de Sjögren, colitis ulcerosa y vasculitis tal como se enumera en las reivindicaciones.

[0341] Entre las realizaciones determinadas de la presente invención se encuentra una composición farmacéutica que comprende una molécula de reconocimiento celular de la presente invención para ser utilizada en el tratamiento de un cáncer, un tumor, una anomalía de crecimiento, un trastorno inmune o una infección microbiana.

[0342] El uso de cualquier composición de la presente invención para el tratamiento o la prevención de un cáncer, un tumor, una anomalía de crecimiento y/o un trastorno inmune se encuentra en el ámbito de la presente divulgación.

[0343] La presente divulgación incluye un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) del tratamiento de cáncer en un paciente utilizando inmunoterapia, el procedimiento comprende la etapa de administración a un paciente que lo necesita de la molécula de reconocimiento celular y/o composición farmacéutica de la presente invención.

[0344] El uso de cualquier composición de interés de la presente invención para el tratamiento o la prevención de un cáncer, un tumor, una anomalía de crecimiento y/o un trastorno inmune se encuentra en el ámbito de la presente divulgación. Entre determinadas realizaciones de la presente invención se encuentra una molécula de reconocimiento celular de la presente invención y/o una composición farmacéutica de la misma para ser utilizada en el tratamiento de un cáncer, un tumor, una anomalía de crecimiento, un trastorno inmune y/o una infección microbiana, tal como se define en las reivindicaciones.

[0345] La presente divulgación describe una composición que comprende una molécula de reconocimiento celular descrita en el presente documento para la administración de uno o más materiales exógenos adicionales a una célula acoplada físicamente a una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular descrita en el presente documento. La molécula de reconocimiento celular de la presente divulgación se puede utilizar para administrar uno o más materiales exógenos adicionales a una célula físicamente acoplada a una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular descrita en el presente

documento. Adicionalmente, la presente divulgación da a conocer un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de administración de material exógeno a la parte interior de una célula(s) que comprende realización de contacto entre la(s) célula(s), o *in vitro* o *in vivo*, con una molécula de reconocimiento celular, una composición farmacéutica y/o una composición diagnóstica descrita en el presente documento. La presente divulgación proporciona adicionalmente un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de administración de material exógeno a la parte interior de una célula(s) en un paciente que lo necesita, el procedimiento comprende la etapa de administración al paciente de una molécula de reconocimiento celular descrita en el presente documento, en donde la(s) célula(s) diana se acopla(n) de manera física a una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula de reconocimiento celular descrita en el presente documento.

[0346] El uso de una molécula de reconocimiento celular o una composición farmacéutica de la presente invención para el diagnóstico, pronóstico y/o caracterización *in vitro* de una enfermedad, un trastorno y/o una condición se describe en el presente documento, pero no forma parte de la presente invención reivindicada.

[0347] La presente divulgación describe el procedimiento de detección de una célula (que no forma parte de la presente invención reivindicada) utilizando una molécula de reconocimiento celular y/o una composición diagnóstica descrita en el presente documento que comprende las etapas de realización de contacto entre una célula con dicha molécula de reconocimiento celular y/o composición diagnóstica y detección de presencia de dicha molécula de reconocimiento celular y/o composición diagnóstica. La etapa de realización de contacto con la(s) célula(s) puede tener lugar *in vitro*. La etapa de realización de contacto con la(s) célula(s) puede tener lugar *in vivo*. La etapa de detección de la(s) célula(s) puede tener lugar *in vitro*. La etapa de detección de la(s) célula(s) puede tener lugar *in vivo*.

[0348] Por ejemplo, una composición diagnóstica de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) se puede utilizar en la detección de una célula *in vivo* mediante la administración a un sujeto cordato de una composición que comprende la molécula de reconocimiento celular de la presente invención que comprende una agente promotor de detección y, a continuación, detectar la presencia de la molécula de reconocimiento celular descrita en el presente documento y/o la carga de epítipo de célula T CD8+, heterólogo o *in vitro* o *in vivo*.

[0349] Se pueden utilizar las determinadas realizaciones de las moléculas de reconocimiento celular de la presente invención para la administración de material exógeno adicional a una célula acoplada físicamente a una biomolécula diana extracelular de la molécula de reconocimiento celular de la presente invención. Adicionalmente, la presente divulgación da a conocer un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de administración de material exógeno a la parte interior de una célula(s) que comprende realización de contacto entre la(s) célula(s), o *in vitro* o *in vivo*, con una molécula de reconocimiento celular, una composición farmacéutica y/o una composición diagnóstica descrita en el presente documento. La presente divulgación proporciona adicionalmente un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de administración de material exógeno a la parte interior de una célula(s) en un paciente, el procedimiento comprende la etapa de administración al paciente de una molécula de reconocimiento celular descrita en el presente documento (con o sin actividad citotóxica), en donde la(s) célula(s) diana se acopla(n) de manera física a una biomolécula diana extracelular de la molécula de reconocimiento celular.

[0350] Entre determinadas realizaciones de la presente divulgación se encuentra un procedimiento *in vitro* (que no forman parte de la presente invención reivindicada) de administración de una carga de epítipo de célula T CD8+ a una molécula de MHC de clase I de una célula, el procedimiento comprende la etapa de realización de contacto entre la célula con la molécula de reconocimiento celular de la presente invención que se asocia a una carga de epítipo de célula T, heterólogo y/o una composición farmacéutica de la presente invención.

[0351] La presente divulgación describe un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) del «sembrado» de un locus de tejido en un cordato, el procedimiento comprende la etapa de: administración a un cordato de una molécula de reconocimiento celular de la presente invención, una composición farmacéutica descrita en el presente documento y/o una composición diagnóstica de la presente divulgación. Los procedimientos de la divulgación del «sembrado» de un locus de tejido sirven para el «sembrado» de un locus de tejido que comprende un tejido maligno, enfermo o inflamado. Los procedimientos de la divulgación del «sembrado» de un locus de tejido sirven para el «sembrado» de un locus de tejido que comprende el tejido que se selecciona entre el grupo que consiste en: tejido enfermo, masa tumoral, crecimiento cancerígeno, tumor, tejido infectado o masa celular anormal. Los procedimientos de la divulgación para el «sembrado» de un locus de tejido comprenden la administración al cordato de la molécula de reconocimiento celular, la composición farmacéutica o la composición diagnóstica descrita en el presente documento que comprende la carga de epítipo de célula T, heterólogo que se selecciona entre el grupo que consiste en: péptidos que no se exponen originalmente por las células diana de la molécula de reconocimiento celular en complejos de MHC de clase I, péptidos que no están presentes originalmente en ninguna proteína expresada por la célula diana, péptidos que no están originalmente presentes en la proteoma de la célula diana, péptidos que no están originalmente presentes en el microambiente extracelular del sitio a sembrar y péptidos que no están originalmente presentes en la masa tumoral o el sitio de tejido infectado para el reconocimiento.

[0352] El uso de cualquier composición de interés de la presente invención para el diagnóstico, pronóstico y/o caracterización *in vitro* de una enfermedad, un trastorno y/o una condición se describe en el presente documento, pero

no forma parte de la presente invención reivindicada. La presente divulgación describe un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de utilización de una molécula de reconocimiento celular de la presente invención que comprende un agente promotor de detección y/o una composición de la presente invención (por ejemplo, una composición diagnóstica) para la recopilación de información útil en el diagnóstico, pronóstico o caracterización de una enfermedad, un trastorno o una condición. La presente divulgación describe el procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de detección de una célula (o compartimento subcelular de la misma) utilizando una molécula de reconocimiento celular y/o una composición diagnóstica descrita en el presente documento, el procedimiento comprende las etapas de realización de contacto entre una célula con la molécula de reconocimiento celular y/o composición diagnóstica y detección de presencia de dicha molécula de reconocimiento celular y/o composición diagnóstica. La etapa de realización de contacto con la(s) célula(s) puede tener lugar *in vitro*. La etapa de realización de contacto con la(s) célula(s) puede tener lugar *in vivo*. La etapa de detección de la(s) célula(s) puede tener lugar *in vitro*. La etapa de detección de la(s) célula(s) puede tener lugar *in vivo*. El procedimiento puede implicar la detección de la localización de la molécula de reconocimiento celular en un organismo utilizando uno o más procedimientos después de la administración de la molécula de reconocimiento celular a dicho organismo. Por ejemplo, las moléculas de reconocimiento celular descritas en el presente documento que incorporan los agentes promotores de detección tal como se describe en el presente documento se pueden utilizar para caracterizar enfermedades como potencialmente tratables mediante una composición farmacéutica relacionada de la presente invención. Por ejemplo, las moléculas de reconocimiento celular de la presente invención y las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden utilizarse para determinar si un paciente pertenece a un grupo que responde a una composición farmacéutica de la presente invención. Por ejemplo, determinadas moléculas de reconocimiento celular de la presente invención y las composiciones farmacéuticas de las mismas se pueden utilizar para identificar células que tienen una carga de epítipo heterólogo administrada a una superficie celular y/o identificar a sujetos que contienen células que tienen una carga de epítipo heterólogo administrada mediante una molécula de reconocimiento celular de la presente invención.

[0353] La presente divulgación describe un procedimiento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de producción de una molécula de la presente invención, el procedimiento comprende la etapa de purificación de la molécula de la presente invención o un componente de polipéptido de la misma utilizando una interacción entre célula-pared bacteriana y dominio de proteína, tal como, por ejemplo, proteína L de *P. magnus* o derivados y fragmentos de dominio de unión de la misma. La etapa de purificación del procedimiento puede implicar el polipéptido efector de toxina Shiga que comprende o consiste esencialmente en cualquiera de los polipéptidos mostrados en SEQ ID NOs: 29-38.

[0354] Entre determinadas realizaciones de la presente divulgación se encuentra un kit (que no forma parte de la presente invención reivindicada) que comprende una composición de interés de la presente invención y un reactivo adicional y/o un dispositivo de administración farmacéutico. El kit puede comprender adicionalmente reactivos u otras herramientas de detección de un tipo de célula (por ejemplo, una célula tumoral) en una muestra o en un sujeto.

[0355] Estas y otras características, aspectos y ventajas de la presente invención se entenderán mejor con referencia a las siguiente descripción, reivindicaciones adjuntas y dibujos adjuntos. Los elementos mencionados anteriormente de la presente invención se pueden combinar de manera individual o eliminar libremente para generar otras realizaciones de la presente invención, en el ámbito de las reivindicaciones sin declaración de objeción para dicha combinación o eliminación de aquí en adelante.

45 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0356]

Figura 1A y Figura 1B representan moléculas de reconocimiento celular de ejemplo que comprenden una carga de epítipo-peptido de célula T CD8+, heterólogo (se muestra con una forma de diamante). Cada una de estas moléculas de reconocimiento celular de ejemplo comprende un polipéptido efector de toxina Shiga que posee una combinación de características: desinmunización de mutaciones (representada como una región con líneas horizontales), un epítipo de célula T CD8+, heterólogo, incorporado (representado como una región de líneas verticales) y a veces un sitio de proteasa alterado o ausente (representado con una línea discontinua). La «N» y la «C» representan un extremo amino terminal y un extremo carboxi terminal, respectivamente, de un componente de polipéptido de una molécula de reconocimiento celular. Estas moléculas de reconocimiento celular de ejemplo a veces comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga que posee la tercera característica de un sitio de escisión por furina alterado en el extremo carboxi terminal de un fragmento A1 derivado de la región representada con una línea discontinua, vertical, gris.

Las representaciones de las moléculas de ejemplo en la Figura 1A y la Figura 1B tienen fines de ilustración de determinada disposición general de las características estructurales de un conjunto limitado de realizaciones descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada). Se debe entender que estas moléculas de ejemplo no pretenden, ni deberían considerarse, completamente definitivas en lo que se refiere a la disposición de cualquier característica y/o componentes estructurales de una molécula de la presente invención, que se define en las reivindicaciones. El tamaño, la ubicación o el número relativo de características mostradas en los esquemas de la Figura 1A y la Figura 1B han sido simplificados. Por ejemplo, las posiciones relativas de epítopos

heterólogos, incluidos y alteraciones de regiones de epítipo, endógenas no están fijadas. De manera similar, el número total de epítopos heterólogos, incluidos y alteraciones de regiones de epítipo, endógenas no están fijadas. Determinadas realizaciones de las moléculas de la presente divulgación comprenden una pluralidad de regiones de epítipo, endógenas, alteradas en un polipéptido efector de toxina Shiga único, tal como, por ejemplo, alteraciones de cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o más regiones; en donde estas regiones de epítipo, endógenas, alteradas se pueden distribuir a lo largo del polipéptido efector de toxina Shiga, que incluye alteraciones que se superponen con o se encuentran en el motivo de escisión por furina de la región del extremo carboxi terminal de una región derivada de fragmento A1 de toxina Shiga (véase, por ejemplo, WO 2016/196344). Determinadas realizaciones de la presente divulgación comprenden alteraciones de regiones de epítipo, endógenas que son extremos carboxi terminales para los extremos carboxi terminales del fragmento A1 de toxina Shiga o un derivado de los mismos, tal como, por ejemplo, en una posición del extremo carboxi terminal para cualquier motivo de sitio de escisión por furina alterado. Los esquemas en la Figura 1A y la Figura 1B no pretenden representar con exactitud ninguna información que se refiere a los tamaños relativos de estructuras moleculares en ninguna realización de la presente invención, lo que se define en las reivindicaciones.

Figura 2 muestra de manera gráfica que la molécula de reconocimiento celular de ejemplo SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO:252) mostró citotoxicidad en dos diferentes tipos de células comparable con una molécula de reconocimiento celular de «control» SLT-1A-DI-FR::scFv-1 (SEQ ID NO:258). La viabilidad del porcentaje de las células positivas diana para cada tipo de células se representó mediante el logaritmo de base 10 de la concentración de molécula de reconocimiento celular administrada a las células correspondientes.

Figura 3 muestra de manera gráfica la presentación de superficie celular de una molécula de reconocimiento celular que administra epítipo-péptido de célula T CD8+ heterólogo en complejo con una molécula de MHC de clase I mediante una célula cancerígena positiva diana en comparación con un control negativo. La Figura 3 muestra la superposición de los resultados de un ensayo de TCR-STAR™, análisis citométrico de flujo de conjuntos de células tratadas o con la molécula de reconocimiento celular de ejemplo SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO:252) o un control negativo, la molécula de reconocimiento celular SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO:258), que carece de cualquier carga de epítipo-péptido C2. El recuento de células FACS de células positivas diana se representó con la señal de luz a partir de un reactivo multímero PE-STAR™ en unidades de luz relativa (RLU) que representa la presencia de molécula de MHC de clase I, de superficie celular (HLA-A2 humano) mostró complejos de epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21). Las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular de ejemplo SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO:252) mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en complejo con las moléculas de MHC de clase I en sus superficies celulares (gráficos superiores), considerando que las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular parental SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO:258) no mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en una superficie celular (gráfico inferior).

Figura 4 muestra de manera gráfica los tamaños y las proporciones de moléculas presentes en una preparación de muestra de SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO:252) analizada mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Para el análisis de SEC, la absorbancia de luz ultravioleta a una longitud de onda de 280 nanómetros (nm) del material eluido después de fluir a través de una columna de SEC se representó en unidades de milabsorbancia (mAU) sobre el volumen de fracción en mililitros (ml). Se utilizó un software para identificar picos individuales en la huella de 280 nm y el volumen de fracción de cada pico de absorbancia máxima de luz ultravioleta a 280 nm.

Figura 5 muestra un gel de poliacrilamida, dodecilsulfato sódico, tintado con Coomassie (SDS-PAGE) después de la electroforesis de preparación de muestra de SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO:252) preparada para la carga con gel bajo condiciones de reducción. Figura 5 muestra que el tamaño de SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 reducido (SEQ ID NO:252) era aproximadamente 55 kiloDaltones (kDa).

Figura 6 muestra de manera gráfica la fusión entre un epítipo-péptido de célula T CD8+ y una subunidad A de toxina Shiga derivada, la molécula de reconocimiento celular no perjudicó de manera importante la actividad citotóxica de la molécula de reconocimiento celular hacia las células positivas diana. La viabilidad del porcentaje de células se trazó mediante el logaritmo de base 10 de la concentración de proteína. Figura 6 muestra de manera gráfica los resultados de un ensayo de eliminación celular donde SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO:278) mostró citotoxicidad similar a la citotoxicidad de la molécula de reconocimiento celular parental SLT-1A::scFv1 (SEQ ID NO:280), que carece de cualquier péptido-epítipo de célula T CD8+, heterólogo.

Figura 7 muestra de manera gráfica los resultados de un ensayo de eliminación celular donde la actividad citotóxica de la molécula de reconocimiento celular de ejemplo SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO:278) era específica para las células positivas diana según un determinado intervalo de concentración. La viabilidad del porcentaje de células se trazó mediante el logaritmo de base 10 de la concentración de proteína. Las células negativas para la expresión en la superficie celular de una biomolécula diana de la región de unión scFv2 no se eliminaron (aproximadamente 100% de viabilidad celular) con SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO:278) en el intervalo de concentración de molécula utilizada para medir de manera precisa el valor CD₅₀ de SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO:278) en lo que se refiere a las células positivas diana y tal como se muestra en la Figura 6.

Figura 8 muestra de manera gráfica la presentación de superficie celular de una molécula de reconocimiento celular

que administra epítipo-péptido de célula T CD8+ heterólogo en complejo con una molécula de MHC de clase I mediante una célula cancerígena positiva diana en comparación con un control negativo. La Figura 8 muestra la superposición de los resultados de un ensayo de TCR-STAR™, análisis citométrico de flujo de conjuntos de células tratadas o con un control negativo, la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO:278) o la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv2 (SEQ ID NO:281). El recuento de células mediante citometría de flujo con clasificación de células activadas mediante fluorescencia (FACS) de células positivas diana se representó con la señal de luz a partir de un reactivo multímero PE-STAR™ en unidades de luz relativa (RLU) que representa la presencia de molécula de MHC de clase I, de superficie celular (HLA-A2 humano) mostró complejos de epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21). Las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular de ejemplo SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO:278) mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en complejo con las moléculas de MHC de clase I en sus superficies celulares (gráficos superiores), considerando que las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular correspondiente SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO:281) no mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en una superficie celular (gráfico inferior).

Figura 9 muestra de manera gráfica la presentación de superficie celular de una molécula de reconocimiento celular que administra epítipo-péptido de célula T CD8+ heterólogo en complejo con una molécula de MHC de clase I mediante una célula cancerígena positiva diana en comparación con controles negativos. En la Figura 9, se representó mediante el gráfico la intensidad media de fluorescencia indexada («IMFI», la fluorescencia de la población positiva multiplicada por el porcentaje positivo) del reactivo multímero PE-STAR™ en RLU que corresponde a los conjuntos de células que reciben los tratamientos diferentes. La Figura 9 muestra los resultados de un ensayo TCR-STAR™, el análisis de citometría de flujo de células tratadas o con un control de péptido C2 exógeno (SEQ ID NO:21), «SLT-1A::scFv inactivo» (SEQ ID NO:282), o la molécula de reconocimiento celular «SLT-1A::scFv2::C2 inactiva» (SEQ ID NO:270). El péptido C2 administrado de manera exógena ((SEQ ID NO:21), tal como se menciona anteriormente) se combinó con un potenciador de carga de péptido («PLE», Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.). El péptido C2 (SEQ ID NO:21) combinado con el tratamiento de potenciador de carga de péptido (PLE) facilita un control positivo cuando el péptido C2 administrado de manera exógena (SEQ ID NO:21) se puede cargar en las moléculas de MHC de clase I de superficie celular sin penetrar una célula. Las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular de ejemplo «SLT-1A::scFv2::C2 inactiva» (SEQ ID NO:270) mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en complejo con las moléculas de MHC de clase I en sus superficies celulares, considerando que las células tratadas solamente con el epítipo-péptido C2 exógeno (SEQ ID NO:21) o la molécula de reconocimiento celular parental «SLT-1A::scFv2 inactiva» (SEQ ID NO:282) no mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en una superficie celular.

Figura 10 muestra de manera gráfica la presentación de superficie celular de una molécula de reconocimiento celular que administra epítipo-péptido de célula T CD8+ heterólogo en complejo con una molécula de MHC de clase I mediante una célula cancerígena positiva diana durante diferentes periodos de tiempo de incubación (4 horas o 16 horas) en comparación con un control negativo. La Figura 10 muestra la superposición de los resultados de un ensayo de TCR-STAR™, análisis citométrico de flujo de conjuntos de células tratadas o con la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO:278) o un control negativo. El recuento de células FACS de células positivas diana se representó con la señal de luz a partir de un reactivo multímero PE-STAR™ en unidades de luz relativa (RLU) que representa la presencia de molécula de MHC de clase I, de superficie celular (HLA-A2 humano) mostró complejos de epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21). Las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv1::C2 de ejemplo (SEQ ID NO:278) mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en complejo con las moléculas de MHC de clase I en sus superficies celulares o después de un periodo de incubación de 4 horas (4 horas) (gráfico superior) o 16 horas (16 horas) (gráfico inferior).

Figura 11 muestra de manera gráfica la presentación de superficie celular de una molécula de reconocimiento celular que administra epítipo-péptido de célula T CD8+ heterólogo en complejo con una molécula de MHC de clase I mediante una célula cancerígena positiva diana en comparación con un control negativo. La Figura 11 muestra la superposición de los resultados de un ensayo de TCR-STAR™, análisis citométrico de flujo de conjuntos de células tratadas o con un control negativo, la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv5::C2 (SEQ ID NO:274) o la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv5 (SEQ ID NO:283). El recuento de células FACS de células positivas diana se representó con la señal de luz a partir de un reactivo multímero PE-STAR™ en unidades de luz relativa (RLU) que representa la presencia de molécula de MHC de clase I, de superficie celular (HLA-A2 humano) mostró complejos de epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21). Las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular de ejemplo SLT-1A::scFv5::C2 (SEQ ID NO:274) mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en complejo con las moléculas de MHC de clase I en sus superficies celulares (gráficos superiores), considerando que las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular parental SLT-1A::scFv5 (SEQ ID NO:283) no mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en una superficie celular (gráfico inferior).

Figura 12 muestra de manera gráfica la presentación de superficie celular de una molécula de reconocimiento celular que administra epítipo-péptido de célula T CD8+ heterólogo en complejo con una molécula de MHC de clase I mediante una célula cancerígena positiva diana en comparación con un control negativo. La Figura 12 muestra la superposición de los resultados de un ensayo de TCR-STAR™, análisis citométrico de flujo de conjuntos de células tratadas o con un control negativo, la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv7::C2 (SEQ ID NO:277) o la molécula de reconocimiento celular SLT-1A::scFv7 (SEQ ID NO:286). El recuento de células FACS de células positivas

diana se representó con la señal de luz a partir de un reactivo multímero PE-STAR™ en unidades de luz relativa (RLU) que representa la presencia de molécula de MHC de clase I, de superficie celular (HLA-A2 humano) mostró complejos de epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21). Las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular de ejemplo SLT-1A::scFv7::C2 (SEQ ID NO:277) mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en complejo con las moléculas de MHC de clase I en sus superficies celulares (gráficos superiores), considerando que las células positivas diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular parental SLT-1A::scFv7 (SEQ ID NO:286) no mostraron el epítipo-péptido C2 (SEQ ID NO:21) en una superficie celular (gráfico inferior).

La **Figura 13** muestra gráficamente los resultados de un ensayo ELISpot de Interferón Gamma con el número de manchas, o células secretoras, representados para cada condición analizada. Para cada muestra, las células cancerosas humanas diana positivas se trataron previamente con una molécula de reconocimiento de células o un control negativo y, a continuación, se incubaron con PBMC humanas (serotipo HLA-A2) durante 24 horas antes de realizar el ensayo ELISPOT. La Figura 13 muestra que las células diana positivas tratadas con la molécula de ejemplo de reconocimiento de células "SLT-1A inactiva::scFv2::C2" (SEQ ID NO: 270) promovieron la secreción de citocinas por las PBMC, mientras que el tratamiento con la molécula de reconocimiento de células parentales " SLT-1A inactivo::scFv2" (SEQ ID NO: 282) dio como resultado sólo un nivel de fondo de secreción de interferón-y aproximadamente al mismo nivel que el tratamiento de control negativo de "sólo tampón". La notación "Línea celular G + PBMC objetivo positiva" indica que todas las muestras mostradas implicaron un cocultivo de células tumorales de la línea celular G con PBMC.

La **Figura 14** muestra gráficamente los resultados de un ensayo de activación de linfocitos T intercelulares (células T) con actividad de luciferasa representada en RLU para cada condición analizada. Para cada muestra, las células cancerosas humanas diana positivas se trataron previamente con una molécula de reconocimiento de células o un control negativo y, a continuación, se incubaron durante 18 horas con células T 176 humanas que expresan un receptor de células T humanas (TCR) que reconoce específicamente la superficie celular. presentados, complejos de epítipo F2 de molécula MHC de clase I humana (HLA-A2) (SEQ ID NO: 25), y que comprenden un elemento de respuesta transcripcional del factor nuclear de células T activadas (NFAT) que impulsa la expresión de luciferasa (transfectada con reportero de luciferasa). La actividad luciferasa en las muestras, que indica la actividad NFAT en las células T, se midió utilizando el reactivo del sistema de ensayo de luciferasa One-Glo™ según las instrucciones del fabricante. La Figura 14 muestra que las células tumorales diana positivas pretratadas con la molécula de ejemplo de reconocimiento de células "SLT-1A inactiva::scFv6::F2" (SEQ ID NO: 276) estimularon una respuesta intermolecular en forma de activación de células T mediante el reconocimiento de TCR. y señalización NFAT; mientras que, el tratamiento de células diana positivas con la molécula de reconocimiento de células parentales "inactiva SLT-1A::scFv6" (SEQ ID NO: 285) dio como resultado sólo el nivel de fondo de señal luminosa aproximadamente al mismo nivel que el tratamiento de control negativo de "sólo búfer". La notación "Células T indicadoras F+ de línea celular positivas objetivo" indica que todas las muestras mostradas implicaron un cocultivo de células tumorales de la línea celular G con las células T 176 transfectadas con indicador de luciferasa (serotipo HLA-A2) como se describió anteriormente.

La **Figura 15** muestra gráficamente los resultados de un ensayo ELISA de IFN-y con datos de la muestra "sólo tampón" en negro y de la muestra tratada con la molécula de reconocimiento de células en gris. A lo largo del eje Y se encuentra la cuantificación del IFN-y presente en los sobrenadantes de un experimento de cocultivo, expresada en picogramos por ml (pg/ml). Las células del cocultivo consistían en PBMC humanas enriquecidas en PBMC restringidas en C2 y células tumorales humanas. Las células tumorales utilizadas eran de la línea celular I y se trataron previamente con "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactivo" (SEQ ID NO: 253). La Figura 15 muestra que el cocultivo de PBMC con células tumorales diana positivas después de la incubación con la molécula de reconocimiento de células "inactiva SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)3" (SEQ ID NO: 253) pero no con "tampón". solamente" da como resultado la inducción de la secreción de IFN-y humano indicativa de células T activadas entre las PBMC.

La **Figura 16** muestra gráficamente los resultados de un ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® de un experimento de cocultivo con datos de la muestra "sólo tampón" en negro y de la muestra tratada con la molécula de reconocimiento de células en gris. A lo largo del eje Y está la cuantificación de la viabilidad de las células adherentes expresada como porcentaje del control negativo "sólo tampón" en RLU. Las células del cocultivo consistían en PBMC humanas enriquecidas en PBMC restringidas en C2 y células tumorales humanas. Las células tumorales utilizadas eran de la línea celular I y se trataron previamente con "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactivo" (SEQ ID NO: 253). La Figura 16 muestra el cocultivo de PBMC con células tumorales diana positivas después de la incubación con la molécula de reconocimiento de células "SLT-1A-DI-4 inactiva::scFv6::(C2)3" (SEQ ID NO: 253) pero no con "tampón solamente". "da como resultado la destrucción de las células tumorales, como lo demuestra la gran reducción en el porcentaje de viabilidad de las células tumorales adherentes.

La **Figura 17** representa gráficamente el número de células inmunitarias agrupadas durante diferentes momentos de un experimento de cocultivo de 140 horas con datos de la muestra "sólo tampón" en negro y de la muestra tratada con la molécula de reconocimiento de células en gris. Las células se contaron utilizando el ensayo de imágenes de células vivas IncuCyte® S3 realizado como se describe en el presente documento. Las células del cocultivo consistían en PBMC humanas enriquecidas en PBMC restringidas en C2 y células tumorales humanas. Las células tumorales utilizadas eran de la línea celular I y se trataron previamente con "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactiva" (SEQ ID NO: 253). La cantidad de células implicadas y la cantidad de grupos de PBMC de más de 100 micrones son indicativos de

la activación de las células inmunitarias que se produce en el cocultivo. La cantidad de células y grupos a lo largo del tiempo (la persistencia del comportamiento de agrupamiento de células inmunitarias) también es indicativa de la activación de las células inmunitarias que se produce en el cocultivo.

5 La **Figura 18** muestra gráficamente los resultados de los ensayos ELISA de IFN- γ con datos de tres tipos de células tumorales diferentes tratadas con tres concentraciones diferentes de una molécula de reconocimiento de células de ejemplo (SEQ ID NO: 254) (mostrada en gris) y datos de un control. tratamiento usando una molécula de reconocimiento de células que carece de cualquier carga de péptido-epítipo C2 para su administración (SEQ ID NO: 256) (mostrada en negro). A lo largo del eje Y está la cuantificación de IFN- γ presente en los sobrenadantes de experimentos de cocultivo informada en pg/ml. El eje x muestra cuatro condiciones experimentales diferentes: sin cocultivo de PBMC, tratamiento "sólo con tampón" de células tumorales antes del cocultivo, tratamiento de células tumorales con 100 nM de molécula y tratamiento con células tumorales con 500 nM de molécula. Las células del cocultivo consistían en PBMC humanas enriquecidas en PBMC restringidas en C2 y células tumorales humanas. Las células tumorales utilizadas eran de la línea celular I, J o K y se trataron previamente con "SLT-1A-DI-1 inactiva::scFv8::C2" (SEQ ID NO: 254) o "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254) -DI-1::scFv8" (SEQ ID NO: 256). A medida que la concentración de molécula de reconocimiento de células de ejemplo en el tratamiento aumenta de cero a 100 y 500 nM, la cantidad de IFN- γ humano secretado en el cocultivo aumenta (por ejemplo, por encima de aproximadamente 400 o 600 pg/ml). Los resultados muestran que ni "sólo tampón" ni la molécula de referencia estrechamente relacionada de reconocimiento de células "SLT-1A-DI-1::scFv8 inactiva" (SEQ ID NO: 256) que carece del péptido-epítipo C2 (SEQ ID NO: 256) :21) fue capaz de inducir la secreción de IFN- γ después de 48 horas después del cocultivo. La notación "+ PBMC" indica que la muestra mostrada implicó un cocultivo de células tumorales y PBMC.

25 La **Figura 19** muestra gráficamente los resultados de CellTiter-Glo[®] Ensayos de viabilidad de células luminiscentes de experimentos de cocultivo con datos de tres tipos de células tumorales diferentes tratadas con tres concentraciones diferentes de una molécula de reconocimiento de células de ejemplo (SEQ ID NO: 254) (mostrada en gris) y datos de un tratamiento de control que utiliza una molécula dirigida que carece de cualquier carga de péptido-epítipo C2 para su suministro (SEQ ID NO: 256) (mostrada en negro). A lo largo del eje Y está la cuantificación de la viabilidad de las células adherentes en RLU. El eje x muestra cuatro condiciones experimentales diferentes: sin cocultivo de PBMC, tratamiento "sólo con tampón" de células tumorales antes del cocultivo, tratamiento de células tumorales con 100 nM de molécula y tratamiento con células tumorales con 500 nM de molécula. Las células del cocultivo consistían en PBMC humanas enriquecidas en PBMC restringidas en C2 y células tumorales humanas. Las células tumorales utilizadas eran de la línea celular I, J o K y se trataron previamente con "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254) o "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254) -DI-1::scFv8" (SEQ ID NO: 256). A medida que la concentración de la molécula de reconocimiento de células de ejemplo "SLT-1A-DI-1 inactiva::scFv8::C2" (SEQ ID NO: 254) en el tratamiento aumenta de cero a 100 y 500 nM, la célula adherente la viabilidad cae por debajo del 50 por ciento. Los resultados muestran que ni "sólo tampón" ni la molécula de referencia estrechamente relacionada de reconocimiento de células "SLT-1A-DI-FR::scFv8 inactiva" (SEQ ID NO: 256) que carece del péptido-epítipo C2 (SEQ ID NO: 21) fue capaz de causar una muerte celular significativa durante 96 horas de cocultivo. La notación "+ PBMC" indica que la muestra mostrada implicó un cocultivo de células tumorales y PBMC.

45 La **Figura 20** muestra gráficamente los resultados de IFN- γ ELISA y CellTiter-Glo[®] Ensayos de viabilidad de células luminiscentes de experimentos de cocultivo con pretratamiento de células tumorales con una molécula de reconocimiento de células de ejemplo (SEQ ID NO: 255) mostrada en gris y datos del tratamiento de control utilizando una molécula de reconocimiento de células catalíticamente activa que carece de cualquier péptido-epítipo C2. la carga para la suministro se muestra en negro (SEQ ID NO: 257). Las células del cocultivo consistían en PBMC humanas enriquecidas en PBMC restringidas en C2 y células tumorales humanas. Las células tumorales utilizadas eran de la línea celular I y se trataron previamente con el SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 (SEQ ID NO: 255) catalíticamente activo o con la molécula de control catalíticamente activa SLT-1A-DI-1::scFv8 (SEQ ID NO: 257). Para el gráfico del lado izquierdo, el eje Y muestra la cuantificación de IFN- γ presente en los sobrenadantes de los experimentos de cocultivo informados en pg/ml. En el gráfico del lado derecho, el eje Y muestra la cuantificación de la viabilidad de las células adherentes en RLU. Para ambos gráficos, el eje x muestra cuatro condiciones experimentales diferentes: sin cocultivo de PBMC, tratamiento "sólo con tampón" de células tumorales antes del cocultivo, tratamiento de células tumorales con 30 nM de molécula y tratamiento de células tumorales con 100 nM de molécula. . A medida que la concentración de la molécula de reconocimiento de células de ejemplo SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 (SEQ ID NO: 255) en el tratamiento aumenta de cero a 30 y 100 nM, la cantidad de IFN-humano secretado y en el cocultivo sube por encima de 200 pg/ml y la viabilidad de las células adherentes se reduce más que el tratamiento con una molécula de reconocimiento de células catalíticamente activa estrechamente relacionada SLT-1A-DI-1::scFv8 (SEQ ID NO: 257) que carece de carga de péptido-epítipo C2 (SEQ ID NO: 21). La molécula de control no indujo ninguna secreción de IFN- γ humano por parte de las PBMC en cocultivo y no redujo la viabilidad de las células tumorales con el tiempo tanto como lo hizo la molécula de ejemplo para una concentración de tratamiento de molécula determinada. La notación "+ PBMC" indica que la muestra mostrada implicó un cocultivo de células tumorales y PBMC.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

65

- [0357] La presente invención se describe más completamente a continuación utilizando realizaciones ilustrativas, no limitantes, y referencias a las figuras adjuntas. Sin embargo, esta invención puede realizarse de muchas formas diferentes dentro del alcance de las reivindicaciones y no debe interpretarse como limitada a las realizaciones expuestas a continuación. Más bien, estas realizaciones se proporcionan para que esta divulgación sea exhaustiva y transmita el alcance de la presente invención, que es como se define en las reivindicaciones, a aquellos expertos en la técnica. Para que la presente invención pueda entenderse más fácilmente, a continuación se definen ciertos términos. Se pueden encontrar definiciones adicionales en la descripción detallada de la presente invención.
- [0358] Tal como se utilizan en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, los términos "un", "una" y "el" incluyen referentes tanto en singular como en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.
- [0359] Tal como se usa en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, el término "y/o" cuando se refiere a dos especies, A y B, significa al menos una de A y B. Como se usa en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, el término "y/o" cuando se refiere a más de dos especies, como A, B y C, significa al menos una de A, B o C, o al menos una de cualquier combinación de A, B o C (con cada especie en posibilidad singular o múltiple).
- [0360] A lo largo de esta especificación, se entenderá que la palabra "comprende" o variaciones tales como "comprende" o "que comprende" implican la inclusión de un número entero (o componentes) o grupo de números enteros (o componentes) indicados, pero no la exclusión de cualquier otro número entero (o componentes) o grupo de números enteros (o componentes).
- [0361] A lo largo de esta especificación, el término "que incluye" se utiliza para significar "que incluye pero no se limita a". "Incluyendo" y "incluido pero no limitado a" se usan indistintamente.
- [0362] El término "residuo de aminoácido" o "aminoácido" incluye la referencia a un aminoácido que se incorpora a una proteína, polipéptido y/o péptido. El término "polipéptido" incluye cualquier polímero de aminoácidos o residuos de aminoácidos. El término "secuencia polipeptídica" se refiere a una serie de aminoácidos o residuos de aminoácidos que comprenden físicamente un polipéptido. Una "proteína" es una macromolécula que comprende uno o más polipéptidos o "cadenas" polipeptídicas. Un "péptido" es un polipéptido pequeño de tamaños inferiores a aproximadamente un total de 15 a 20 residuos de aminoácidos. El término "secuencia de aminoácidos" se refiere a una serie de aminoácidos o residuos de aminoácidos que físicamente comprenden un péptido o polipéptido dependiendo de la longitud. A menos que se indique lo contrario, las secuencias de polipéptidos y proteínas descritas en el presente documento se escriben de izquierda a derecha representando su orden desde un extremo amino a un extremo carboxi.
- [0363] Los términos "aminoácido", "residuo de aminoácido", "secuencia de aminoácidos" o secuencia polipeptídica incluyen aminoácidos naturales (incluidos los isómeros L y D) y, a menos que se limite de otro modo, también incluyen análogos conocidos de aminoácido natural. ácidos que pueden funcionar de manera similar a los aminoácidos naturales comunes, tales como selenocisteína, pirrolisina, N-formilmetionina, gamma-carboxiglutamato, hidroxiprolinahipusina, ácido piroglutámico y selenometionina (ver, por ejemplo, Young T, Schultz P, J Biol Chem 285: 11039). -44 (2010); Davis L, Chin J, Nat Rev Mol Cell Biol 13: 168-82 (2012); Bohike N, Budisa N, FEMS Microbiol Lett 35: 133-44 (2014); Chin J, Annu Rev Biochem 83: 379-408 (2014); Nagata K et al., Bioinformatics 30: 1681-9 (2014); Pott Met al., ACS Chem Biol 9: 2815-22 (2014); Ho Jet al., ACS Synth Biol. 5: 163-71 (2016); Wang Y, Tsao M, Chembiochem 17: 2234-9 (2016)). Los aminoácidos a los que se hace referencia en el presente documento se describen mediante designaciones abreviadas como se indica en la Tabla A:

Tabla A: Nomenclatura de aminoácidos

Nombre	3 letras	1 letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Ácido aspártico o aspartato	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Ácido glutámico o glutamato	Glu	E
Glutamina	Gln	Q
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P

Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

5 [0364] La frase "sustitución conservativa" con respecto a un residuo de aminoácido de un péptido, región peptídica, región polipeptídica, proteína o molécula se refiere a un cambio en la composición de aminoácidos del péptido, región peptídica, región polipeptídica, proteína, o molécula que no altera sustancialmente la función y estructura del péptido, región peptídica, región polipeptídica, proteína o molécula general (véase Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties (WH Freeman and Company, Nueva York (2ª ed., 1992))).

10 [0365] Para los fines de la presente invención, la frase "derivado de" cuando se refiere a un polipéptido o región polipeptídica significa que el polipéptido o región polipeptídica comprende secuencias de aminoácidos muy similares encontradas originalmente en una proteína "parental" y que ahora pueden comprender ciertas adiciones, eliminaciones, truncamientos, reordenamientos u otras alteraciones de residuos de aminoácidos con respecto al polipéptido original o región polipeptídica siempre que una determinada función(es) y una(s) estructura(s) de la molécula "parental" se conserven sustancialmente. El trabajador experto podrá identificar una molécula parental a partir de la cual se derivó un polipéptido o una región polipeptídica usando técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, software de alineación de secuencias de proteínas.

15 [0366] Para los fines de la presente invención, los términos "terminal", "terminal amino" o "terminal carboxi" con respecto a una región polipeptídica se refiere a los límites regionales de esa región, independientemente de si están unidos residuos de aminoácidos adicionales. por enlaces peptídicos fuera de esa región. En otras palabras, los terminales de la región polipeptídica independientemente de si esa región está fusionada a otros péptidos o polipéptidos. Por ejemplo, una proteína de fusión que comprende dos regiones proteicas, por ejemplo, una región de unión que comprende un péptido o polipéptido y un polipéptido efector de la toxina Shiga, puede tener una región polipeptídica efectora de la toxina Shiga con un extremo carboxilo que termina en el residuo de aminoácido 251 de la toxina Shiga. región polipeptídica efectora a pesar de un enlace peptídico que implica el residuo 251 a un residuo de aminoácido en la posición 252 que representa el comienzo de otra región proteica, por ejemplo, la región de unión. En este ejemplo, el extremo carboxi de la región del polipéptido efector de la toxina Shiga se refiere al residuo 251, que no es un extremo de la proteína de fusión sino que representa un límite regional interno. Por lo tanto, para las regiones polipeptídicas, los términos "terminal", "amino terminal" y "carboxi terminal" se usan para referirse a los límites de las regiones polipeptídicas, ya sea que el límite sea un extremo físico o una posición interna incluida dentro de una posición más grande, cadena polipeptídica continua.

20 [0367] Para los fines de la presente invención reivindicada y con respecto a una secuencia polipeptídica de la toxina Shiga o un polipéptido derivado de la toxina Shiga, el término "tipo salvaje" generalmente se refiere a una secuencia o secuencias de proteínas de la toxina Shiga de origen natural que se encuentran en una especie viva., tal como, por ejemplo, una bacteria patógena, en la que la(s) secuencia(s) de proteína de la toxina Shiga es una de las variantes que aparecen con más frecuencia. Esto contrasta con las secuencias de proteínas de la toxina Shiga que ocurren con poca frecuencia y que, si bien todavía ocurren naturalmente, se encuentran en menos del uno por ciento de los organismos individuales de una especie determinada cuando se muestrea un número estadísticamente poderoso de organismos individuales naturales de esa especie que comprenden al menos una variante de la proteína de la toxina Shiga. Una expansión clonal de un aislado natural fuera de su entorno natural (independientemente de si el aislado es un organismo o una molécula que comprende información de secuencia biológica) no altera el requisito natural siempre que la expansión clonal no introduzca una nueva variedad de secuencia que no esté presente en la naturaleza. poblaciones existentes de esa especie y/o no cambia las proporciones relativas de las variantes de secuencia entre sí.

25 [0368] Los términos "asociado", "que asocia", "unido" o "que une" con respecto a la presente invención reivindicada se refieren al estado de dos o más componentes de una molécula que se unen, enlazan, conectan o acoplan de otro modo a formar una sola molécula o el acto de hacer que dos moléculas se asocien entre sí para formar una sola molécula mediante la creación de una asociación, enlace, unión y/o cualquier otra conexión entre las dos moléculas. Por ejemplo, el término "unido" puede referirse a dos o más componentes asociados mediante una o más interacciones atómicas de manera que se forme una sola molécula y en donde las interacciones atómicas pueden ser covalentes y/o no covalentes. Ejemplos no limitantes de asociaciones covalentes entre dos componentes incluyen enlaces peptídicos y enlaces disulfuro cisteína-cisteína. Ejemplos no limitantes de asociaciones no covalentes entre dos componentes moleculares incluyen enlaces iónicos.

30 [0369] Para los fines de la presente invención, el término "unido" se refiere a dos o más componentes moleculares asociados mediante una o más interacciones atómicas de manera que se forma una sola molécula y en donde las interacciones atómicas incluyen al menos un enlace covalente. Para los fines de la presente invención, el término "unir" se refiere al acto de crear una molécula unida como se describe anteriormente.

35 [0370] Para los fines de la presente invención, el término "fusionado" se refiere a dos o más componentes proteicos asociados por al menos un enlace covalente que es un enlace peptídico, independientemente de si el enlace peptídico

implica la acoplamiento de un átomo de carbono de un grupo ácido carboxílico o implica otro átomo de carbono, tal como, por ejemplo, el carbono α , el carbono β , el carbono γ , el carbono σ , etc. Los ejemplos no limitantes de dos componentes proteicos fusionados entre sí incluyen, por ejemplo, un aminoácido, péptido o polipéptido fusionado a un polipéptido mediante un enlace peptídico de modo que la molécula resultante sea un polipéptido único y continuo.

5 Para los fines de la presente invención, el término "fusión" se refiere al acto de crear una molécula fusionada como se describió anteriormente, tal como, por ejemplo, una proteína de fusión generada a partir de la fusión recombinante de regiones genéticas que cuando se traduce produce una única molécula proteica.

[0371] El símbolo ":" significa que las regiones polipeptídicas antes y después están unidas físicamente entre sí para formar un polipéptido continuo.

10

[0372] A lo largo de esta especificación, se entenderá que el término "biespecífico" incluye moléculas que se unen a diferentes biomoléculas diana extracelulares o que se unen a la misma biomolécula diana extracelular en dos o más epítomos diferentes, ya sean epítomos superpuestos o no superpuestos (por ejemplo, un epítomo bivalente). molécula biparatópica).

15

[0373] Tal como se usa en el presente documento, los términos "expresado", "que expresa" o "expresa", y sus variantes gramaticales, se refieren a la traducción de un polinucleótido o ácido nucleico en una proteína. La proteína expresada puede permanecer intracelular, convertirse en un componente de la membrana de la superficie celular o secretarse en un espacio extracelular.

20

[0374] Tal como se usa en el presente documento, las células que expresan una cantidad significativa de una biomolécula diana extracelular en al menos una superficie celular son "células diana positivas" o "células diana+" y son células físicamente acopladas a la biomolécula diana extracelular especificada. A continuación se define una cantidad significativa de biomolécula diana.

25

[0375] Tal como se usa en el presente documento, el símbolo " α " es una abreviatura de una región de unión de tipo inmunoglobulina capaz de unirse a la biomolécula que sigue al símbolo. El símbolo " α " se utiliza para referirse a la característica funcional de una región de unión de tipo inmunoglobulina basada en su capacidad para unirse a la biomolécula siguiendo el símbolo con una afinidad de unión descrita por una constante de disociación (K_D) de 10^{-5} o menos.

30

[0376] Tal como se usa en el presente documento, el término "dominio variable de cadena pesada (V_H)" o "dominio variable de cadena ligera (V_L)" respectivamente se refiere a cualquier dominio V_H o V_L de anticuerpo (por ejemplo, un dominio V_H o V_L humano) así como cualquier derivado del mismo que conserve al menos la capacidad de unión al antígeno cualitativa del anticuerpo nativo correspondiente (por ejemplo, un dominio V_H o V_L humanizado derivado de un dominio V_H o V_L murino nativo). El dominio V_H o V_L consta de una región de "estructura" interrumpida por las tres CDR o ABR. Las regiones estructurales sirven para alinear las CDR o ABR para la unión específica a un epítipo de un antígeno. Desde el extremo amino al extremo carboxi, tanto el dominio V_H como el V_L comprenden las siguientes regiones estructurales (FR) y CDR o regiones ABR: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4; o, de manera similar, FR1, ABR1, FR2, ABR2, FR3, ABR3 y FR4. Como se usan en el presente documento, los términos "HCDR1", "HCDR2" o "HCDR3" se usan para referirse a las CDR 1, 2 o 3, respectivamente, en un dominio V_H , y los términos "LCDR1", "LCDR2", y "LCDR3" se utilizan para referirse a las CDR 1, 2 o 3, respectivamente, en un dominio V_L . Como se usan en el presente documento, los términos "HABR1", "HABR2" o "HABR3" se usan para referirse a los ABR 1, 2 o 3, respectivamente, en un dominio V_H , y los términos "LABR1", "LABR2", o "LABR3" se utilizan para referirse a las CDR 1, 2 o 3, respectivamente, en un dominio V_L . Para los fragmentos V_{H1} de camélidos, los IgNAR de peces cartilaginosos, los fragmentos V_{NAR} , ciertos anticuerpos de dominio único y sus derivados, existe un dominio variable de cadena pesada único que comprende la misma disposición básica: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Tal como se usan en el presente documento, los términos "HCDR1", "HCDR2" o "HCDR3" pueden usarse para referirse a las CDR 1, 2 o 3, respectivamente, en un dominio variable de cadena pesada única.

35

40

45

50

[0377] Para los fines de la presente invención, el término "efector" significa proporcionar una actividad biológica, tal como citotoxicidad, señalización biológica, catálisis enzimática, enrutamiento subcelular y/o unión intermolecular que da como resultado un efecto(s) alostérico(s) y/o el reclutamiento de uno o más factores. Por ejemplo, un polipéptido efector de la toxina Shiga proporciona una o más actividades biológicas presentes en una toxina Shiga, un componente de la toxina Shiga y/o un fragmento de la misma.

55

[0378] Para los fines de la presente invención, las frases "polipéptido efector de la toxina Shiga", "región del polipéptido efector de la toxina Shiga" y "región efectora de la toxina Shiga" se refieren a un polipéptido o región polipeptídica derivada de al menos una subunidad A de la toxina Shiga. de un miembro de la familia de las toxinas Shiga en el que el polipéptido o la región polipeptídica es capaz de exhibir al menos una función de la toxina Shiga.

60

[0379] Para los fines de la presente invención, el término "heterólogo", que describe una región de unión, significa que la región de unión proviene de una fuente diferente a la de una toxina Shiga de origen natural, por ejemplo, una región

65

de unión heteróloga que es un polipéptido que no se encuentra de forma natural. como parte de cualquier toxina Shiga nativa.

[0380] Para los fines de la presente invención, el término "heterólogo" que describe un epítipo de células T CD8+ significa que el epítipo de células T CD8+ proviene de una fuente diferente a (1) una subunidad A de una toxina Shiga de origen natural, por ejemplo un polipéptido heterólogo no se encuentra naturalmente como parte de ninguna subunidad A de una toxina Shiga nativa y (2) un polipéptido efector de toxina Shiga de la técnica anterior. Por ejemplo, en determinadas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, el término "heterólogo" con respecto a un péptido-epítipo de células T CD8+ se refiere a una secuencia peptídica que no se produjo inicialmente en una molécula de reconocimiento de células para modificarse (molécula parental), pero que se agregó a la molécula, ya sea mediante los procesos de incrustación, fusión, inserción y/o sustitución de aminoácidos como se describe en el presente documento, o mediante cualquier otro medio de ingeniería para crear una molécula de reconocimiento de células modificada. molécula. El resultado es una molécula de reconocimiento de células modificada que comprende un péptido-epítipo de células T CD8+ que es extraño a la molécula de reconocimiento de células original no modificada, es decir, el epítipo de células T CD8+ no estaba presente en la molécula de reconocimiento de células no modificada (parental). molécula). El epítipo de células T CD8+ "heterólogo" puede ser autógeno o heterólogo con respecto a la región de unión.

[0381] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el epítipo heterólogo de células T CD8+ también es heterólogo con respecto a los componentes de la región de unión de la molécula de reconocimiento de células, por ejemplo, un epítipo heterólogo es uno que no es necesario para la actividad de unión de la región de unión y no forma parte de la estructura de la región de unión mínima que proporciona la actividad de unión de la región de unión. Por ejemplo, un epítipo de células T CD8+ que no está presente de forma nativa en una inmunoglobulina es heterólogo de una región de unión de tipo inmunoglobulina derivada de esa inmunoglobulina si no es necesario para la actividad de unión de la región de unión de tipo inmunoglobulina y no forma parte de la estructura de la región de unión mínima estructura que proporciona la actividad de unión de la región de unión de tipo inmunoglobulina.

[0382] Para los fines de la presente invención reivindicada, el término "heterólogo" que describe un epítipo de células T CD8+ significa de una fuente diferente a (1) una subunidad A de una toxina Shiga de origen natural y (2) la región de unión de la molécula de reconocimiento de células que comprende el componente heterólogo. Un péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es un péptido-epítipo de células T CD8+ que aún no está presente en un fragmento de toxina Shiga A1 de tipo salvaje; un fragmento A1 de toxina Shiga de origen natural; y/o un polipéptido efector de toxina Shiga de la técnica anterior usado como componente de la molécula de reconocimiento de células.

[0383] Para los fines de la presente invención reivindicada, la frase "acoplamiento intercelular" por una célula inmunitaria CD8+ se refiere a una célula inmunitaria CD8+ que responde a una célula diferente (por ejemplo, detectando que la otra muestra uno o más pMHC ls) de manera indicativa. de la activación de una respuesta inmune por parte de la célula inmune CD8+, tal como, por ejemplo, respuestas involucradas en destruir la otra célula, reclutar y activar otras células inmunes (por ejemplo, secreción de citocinas), maduración de la célula inmune CD8+, activación de la célula inmune CD8+ celular, etc

[0384] Tal como se usa en el presente documento, el término "administración de epítipo de células T CD8+" cuando se describe una actividad funcional de una molécula significa que una molécula proporciona la actividad biológica de localización dentro de una célula en un compartimento subcelular que es competente para dar como resultado el proceso proteasómico. escisión por una parte proteica de la molécula que comprende un péptido-epítipo de células T CD8+. La función de "administración de epítipo de células T CD8+" de una molécula puede ensayarse observando la presentación MHC de una carga de péptido-epítipo de células T CD8+ de la molécula en una superficie celular de una célula a la que se le ha administrado exógenamente la molécula o en la que se realizó el ensayo. se inició con la célula que contenía la molécula en uno o más de sus compartimentos endosómicos. Generalmente, la capacidad de una molécula para administrar un epítipo de células T CD8+ a un proteosoma se puede determinar donde la ubicación inicial de la molécula "suministrada de epítipo de células T CD8+" es un compartimento endosómico temprano de una célula, y a continuación, la molécula se ha demostrado empíricamente que suministro el péptido-epítipo al proteosoma de la célula. Sin embargo, también se puede determinar una capacidad de "administración de epítipo de células T CD8+" cuando la molécula comienza en una ubicación extracelular y se muestra empíricamente, directa o indirectamente, que administra el epítipo a una célula y a los proteosomas de la célula. Por ejemplo, ciertas moléculas "suministradoras de epítipo de células T CD8+" pasan a través de un compartimento endosómico de la célula, tal como, por ejemplo, después de la entrada endocitótica en esa célula. Alternativamente, se puede observar la actividad de "administración de epítipo de células T CD8+" para una molécula que comienza en una ubicación extracelular mediante la cual la molécula no ingresa a ningún compartimento endosómico de una célula; en lugar de ello, la molécula "administradora de epítipo de células T CD8+" ingresa a una célula y administra un péptido-epítipo de células T a los proteosomas de la célula, presumiblemente porque la molécula "suministro de epítipo de células T CD8+" dirigió su propia ruta a un compartimento subcelular competente para dar como resultado la escisión proteasomal de su componente péptido-epítipo de células T CD8+ .

[0385] Para los fines de la presente invención, una función efectora de la toxina Shiga es una actividad biológica conferida por una región polipeptídica derivada de una subunidad A de la toxina Shiga. Ejemplos no limitantes de funciones efectoras de la toxina Shiga incluyen promover la entrada celular; deformación de la membrana lipídica; promover la internalización celular; estimular la endocitosis mediada por clatrina; dirigir el enrutamiento intracelular a diversos compartimentos intracelulares tales como, por ejemplo, el Golgi, el retículo endoplásmico y el citosol; dirigir el enrutamiento intracelular con una carga; inhibir una(s) función(es) de ribosoma; actividades catalíticas, tales como, por ejemplo, actividad N-glicosidasa e inhibición catalítica de ribosomas; reducir la síntesis de proteínas, inducir la activación de caspasas, activar caspasas efectoras, efectuar efectos citostáticos y citotoxicidad. Las actividades catalíticas de la toxina Shiga incluyen, por ejemplo, inactivación de ribosomas, inhibición de la síntesis de proteínas, actividad de N-glicosidasa, actividad de polinucleótido:adenosina glicosidasa, actividad de ARNasa y actividad de ADNasa. Las toxinas Shiga son proteínas inactivadoras de ribosomas (RIP). Los RIP pueden depurinar ácidos nucleicos, polinucleósidos, polinucleótidos, rRNA, ssDNA, dsDNA, mRNA (y poli A) y ácidos nucleicos virales (ver, por ejemplo, Barbieri Let al., *Biochem J* 286: 1-4 (1992); Barbieri L et al., *Nature* 372: 624 (1994); Ling J et al., *FEBS Lett* 345: 143-6 (1994); Barbieri L et al., *Biochem J* 319: 507-13 (1996); Roncuzzi L, Gasperi- Campani A, *FEBS Lett* 392: 16-20 (1996); Stirpe F et al., *FEBS Lett* 382: 309-12 (1996); Barbieri L et al., *Nucleic Acids Res* 25: 518-22 (1997); Wang P, Turner N, *Nucleic Acids Res* 27: 1900-5 (1999); Barbieri L et al., *Biochim Biophys Acta* 1480: 258-66 (2000); Barbieri L et al., *J Biochem* 128: 883-9 (2000); Brigotti M et al., *Toxicon* 39: 341-8 (2001); Brigotti M et al., *FASEB J* 16: 365-72 (2002); Bagga S et al., *JBiol Chem* 278: 4813-20 (2003); Picard D et al., *JBiol Chem* 280: 20069-75 (2005)). Algunos RIP muestran actividad antiviral y actividad de superóxido dismutasa (Erice A et al., *Antimicrob Agents Chemother* 37:835-8 (1993); Au T et al., *FEBS Lett* 471:169-72 (2000); Parikh B, Turner N, *Mini Rev Med Chem* 4: 523-43 (2004); Sharma Net al., *Plant Physiol* 134: 171-81 (2004)). Se han observado actividades catalíticas de la toxina Shiga tanto in vitro como in vivo. Ejemplos no limitantes de ensayos para la actividad efectora de la toxina Shiga miden diversas actividades, tales como, por ejemplo, actividad inhibidora de la síntesis de proteínas, actividad de depuración, inhibición del crecimiento celular, citotoxicidad, actividad de relajación del ADN superenrollado y actividad de nucleasa.

[0386] Tal como se usa en el presente documento, la conservación de la función efectora de la toxina Shiga se refiere a ser capaz de exhibir un nivel de actividad funcional de la toxina Shiga, medida mediante un ensayo cuantitativo apropiado con reproducibilidad, comparable a un control de polipéptido efector de la toxina Shiga de tipo salvaje. (por ejemplo, un fragmento A1 de toxina Shiga) o molécula de reconocimiento de células que comprende un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje (por ejemplo, un fragmento A1 de toxina Shiga) en las mismas condiciones. Para la función efectora de la toxina Shiga de inactivación de ribosomas o inhibición de ribosomas, la función efectora de toxina Shiga retenida exhibe una IC₅₀ de 10.000 picomolar (pM) o menos en un entorno in vitro, tal como, por ejemplo, usando un ensayo conocido por los expertos. trabajador y/o descrito en el presente documento. Para la función efectora de la citotoxicidad de la toxina Shiga en un ensayo de destrucción celular objetivo positivo, la función efectora de la toxina Shiga retenida exhibe una CD₅₀ de 1.000 nanomolar (nM) o menos, dependiendo del tipo de célula y su expresión de la diana extracelular apropiada. biomolécula, como se muestra, por ejemplo, usando un ensayo conocido por el experto y/o descrito en el presente documento.

[0387] Para los fines de la presente invención reivindicada, el término "equivalente" con respecto a la inhibición de ribosomas significa un nivel medido empíricamente de actividad inhibidora de ribosomas, medido mediante un ensayo cuantitativo apropiado con reproducibilidad, que es reproducible dentro del 10 % o menos del actividad de la molécula de referencia (por ejemplo, la segunda molécula de reconocimiento de células o la tercera molécula de reconocimiento de células) en las mismas condiciones.

[0388] Para los fines de la presente invención reivindicada, el término "equivalente" con respecto a la citotoxicidad significa un nivel de citotoxicidad medido empíricamente, medido mediante un ensayo cuantitativo apropiado con reproducibilidad, que está reproduciblemente dentro del 10% o menos de la actividad del molécula de referencia (por ejemplo, la segunda molécula de reconocimiento de células o la tercera molécula de reconocimiento de células) en las mismas condiciones.

[0389] Tal como se usa en el presente documento, el término "atenuado" con respecto a la citotoxicidad significa que una molécula exhibe o exhibe una CD₅₀ entre 10 veces y 100 veces de una CD₅₀ exhibida por una molécula de referencia en las mismas condiciones.

[0390] Para algunas muestras, es posible que no se puedan obtener valores precisos para IC₅₀ o CD₅₀ debido a la incapacidad de recopilar los puntos de datos necesarios para un ajuste preciso de la curva. Por ejemplo, teóricamente, no se puede determinar ni una IC₅₀ ni una CD₅₀ si no se produce más del 50 % de inhibición de ribosomas o muerte celular, respectivamente, en una serie de concentraciones para una muestra determinada. Los datos insuficientes para ajustarse con precisión a una curva como se describe en el análisis de los datos de ensayos de ejemplo de la función efectora de la toxina Shiga, tales como, por ejemplo, los ensayos descritos en los Ejemplos, no deben considerarse representativos de la función efectora de la toxina Shiga real.

[0391] Un fallo en la detección de actividad en la función efectora de la toxina Shiga puede deberse a una expresión inadecuada, plegamiento de polipéptidos y/o estabilidad de polipéptidos en lugar de una falta de entrada celular, enrutamiento subcelular y/o actividad enzimática. Los ensayos para las funciones efectoras de la toxina Shiga pueden

no requerir mucha molécula de la presente invención de reconocimiento de células para medir cantidades significativas de actividad de la función efectora de la toxina Shiga. En la medida en que se determine empíricamente que una causa subyacente de función efectora baja o nula se relaciona con la expresión o estabilidad de proteínas, un experto en la técnica puede ser capaz de compensar dichos factores utilizando técnicas de ingeniería molecular y química de proteínas conocidas en la técnica. de modo que se pueda restaurar y medir la actividad efectora funcional de la toxina Shiga. Como ejemplos, la expresión celular inadecuada puede compensarse utilizando diferentes secuencias de control de expresión; El plegamiento y/o la estabilidad inadecuados del polipéptido pueden beneficiarse de la estabilización de secuencias terminales o de mutaciones compensatorias en regiones no efectoras que estabilizan la estructura tridimensional de la proteína, etc. Cuando estén disponibles nuevos ensayos para las funciones individuales de la toxina Shiga, las regiones efectoras de la toxina Shiga o polipéptidos pueden analizarse para determinar cualquier nivel de aquellas funciones efectoras de la toxina Shiga, tales como estar dentro de un cierto nivel de actividad de un polipéptido efector de la toxina Shiga de tipo salvaje. Ejemplos de diferencias de actividad significativas son, por ejemplo, regiones efectoras de la toxina Shiga que tienen 1000 veces o 100 veces o menos la actividad de un polipéptido efector de la toxina Shiga de tipo salvaje; o que tienen una actividad de 3 a 30 veces o más en comparación con un polipéptido efector de toxina Shiga desactivado o desactivado funcional.

[0392] Ciertas funciones efectoras de la toxina Shiga no se pueden medir fácilmente, por ejemplo, funciones de enrutamiento subcelular. Por ejemplo, no existe un ensayo cuantitativo de rutina para distinguir si la falla de un polipéptido efector de la toxina Shiga para ser citotóxico y/o suministro un epítipo heterólogo de células T CD8+ se debe a un enrutamiento subcelular inadecuado, pero en un momento en que las pruebas son disponibles, entonces los polipéptidos efectores de la toxina Shiga pueden analizarse para determinar cualquier nivel significativo de ruta subcelular en comparación con el polipéptido efector de la toxina Shiga de tipo salvaje apropiado. Sin embargo, si un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención muestra una citotoxicidad comparable o equivalente a una construcción de la subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje, entonces se infiere que el nivel de actividad de enrutamiento subcelular es comparable o equivalente, respectivamente., al nivel de actividad de enrutamiento subcelular de una construcción de subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje al menos en las condiciones probadas.

[0393] Cuando estén disponibles nuevos ensayos para funciones individuales de la toxina Shiga, los polipéptidos efectores de la toxina Shiga y/o las moléculas que reconocen células que comprenden polipéptidos efectores de la toxina Shiga pueden analizarse para cualquier nivel de esas funciones efectoras de la toxina Shiga, tales como estar dentro de 1000- veces o 100 veces o menos la actividad de un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje o que exhibe una actividad de 3 veces a 30 veces o mayor en comparación con un polipéptido efector de toxina Shiga knockout funcional.

[0394] Se puede deducir un enrutamiento subcelular suficiente simplemente observando los niveles de actividad citotóxica de la toxina Shiga de una molécula de reconocimiento de células en ensayos de citotoxicidad, tales como, por ejemplo, ensayos de citotoxicidad basados en la presentación del epítipo de células T o basados en una función efectora de la toxina Shiga que implica una Sustrato diana localizado en el retículo endoplásmico y/o citosólico.

[0395] Tal como se usa en el presente documento, la conservación de la función efectora de la toxina Shiga "significativa" se refiere a ser capaz de exhibir un nivel de actividad funcional de la toxina Shiga, medida mediante un ensayo cuantitativo apropiado con reproducibilidad comparable a un control de polipéptido efector de la toxina Shiga de tipo salvaje. (por ejemplo, un fragmento A1 de la toxina Shiga). Para la inhibición de ribosomas in vitro, una función efectora significativa de la toxina Shiga es exhibir una CI_{50} de 300 pM o menos dependiendo de la fuente de los ribosomas utilizados en el ensayo (por ejemplo, una bacteria, arquea o eucariota (fuente de algas, hongos, plantas o animales). Esta es una inhibición significativamente mayor en comparación con la IC_{50} aproximada de 100.000 pM para el doble mutante SLT-1A 1-251 alterado catalíticamente (Y77S/E167D). Para la citotoxicidad en un ensayo de destrucción celular con objetivo positivo en cultivo celular de laboratorio, una función efectora significativa de la toxina Shiga es exhibir un CD_{50} de 100, 50, 30 nM o menos, dependiendo de la(s) biomolécula(s) objetivo de la región de unión y el tipo de célula, particularmente la expresión de ese tipo de célula y/o la representación en la superficie celular de la(s) biomolécula(s) diana extracelular(es) apropiada(s) y/o el(los) epítipo(s) extracelular(es) diana(s) por la molécula que se está evaluando. Esto supone una citotoxicidad significativamente mayor para la población celular apropiada y positiva en comparación con una subunidad A de toxina Shiga sola (o un fragmento de toxina A1 de Shiga de tipo salvaje), sin una región de unión de reconocimiento de la célula, que tiene un CD_{50} de 100- 10.000 nM, dependiendo de la línea celular.

[0396] Para los fines de la presente invención y con respecto a la función efectora de la toxina Shiga de una molécula de la presente invención, el término "actividad razonable" se refiere a exhibir al menos un nivel moderado (por ejemplo, entre 11 y 1.000 veces) de la actividad efectora de la toxina Shiga como se define en el presente documento en relación con una molécula que comprende una toxina Shiga de origen natural, en donde la actividad efectora de la toxina Shiga se selecciona del grupo que consiste en: eficiencia de internalización, eficiencia de enrutamiento subcelular al citosol, presentación del epítipo administrado mediante un células diana, inhibición de ribosomas y citotoxicidad. Para la citotoxicidad, un nivel razonable de actividad efectora de la toxina Shiga incluye estar dentro de 1.000 veces de una construcción de toxina Shiga de tipo salvaje, tal como, por ejemplo, exhibir una CD_{50} de 500 nM

o menos cuando una construcción de toxina Shiga de tipo salvaje exhibe una CD50 de 0,5 nM (por ejemplo, una molécula de reconocimiento de células que comprende un fragmento de toxina Shiga A1 de tipo salvaje).

5 [0397] Para los fines de la presente invención y con respecto a la citotoxicidad de una molécula de la presente invención, el término "óptimo" se refiere a un nivel de citotoxicidad mediada por el dominio catalítico de la toxina Shiga que está dentro de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces la citotoxicidad de una molécula que comprende un fragmento A1 de toxina Shiga de tipo salvaje (por ejemplo, una subunidad A de toxina Shiga o ciertas variantes truncadas de la misma) y/o una toxina Shiga de origen natural.

10 [0398] Cabe señalar que incluso si la citotoxicidad de un polipéptido efector de la toxina Shiga se reduce con respecto a una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje o fragmento de la misma, en la práctica, las aplicaciones que utilizan polipéptidos efectores de la toxina Shiga con actividad biológica atenuada pueden ser igual o más eficaz que usar polipéptidos efectores de toxina Shiga de tipo salvaje porque las variantes de mayor potencia podrían presentar efectos indeseables que se minimizan o reducen en variantes de potencia citotóxica reducida. Las toxinas Shiga de tipo salvaje son muy potentes y pueden destruir una célula intoxicada después de que sólo una molécula de toxina haya alcanzado el citosol de la célula intoxicada o quizás después de que sólo cuarenta moléculas de toxina se hayan internalizado en la célula intoxicada. Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga con funciones efectoras de la toxina Shiga incluso considerablemente reducidas, tales como, por ejemplo, enrutamiento subcelular o citotoxicidad, en comparación con los polipéptidos efectores de la toxina Shiga de tipo salvaje, aún pueden ser lo suficientemente potentes para aplicaciones prácticas, tales como, por ejemplo, aplicaciones que implican destrucción de células, administración de epítomos heterólogos y/o detección de células específicas y sus compartimentos subcelulares. Además, ciertos polipéptidos efectores de la toxina Shiga de actividad reducida pueden ser particularmente útiles para administrar cargas (por ejemplo, un material exógeno adicional o epítipo de células T) a ciertas ubicaciones intracelulares o compartimentos subcelulares de células diana.

25 [0399] El término "citotoxicidad selectiva" con respecto a la actividad citotóxica de una molécula se refiere al nivel relativo de citotoxicidad entre una población de células diana positivas para una biomolécula (por ejemplo, un tipo de célula diana) y una población de células espectadoras no diana (por ejemplo, una biomolécula de tipo celular negativo objetivo), que se puede expresar como una proporción de la mitad de la concentración citotóxica máxima (CD₅₀) para un tipo de célula objetivo sobre la CD₅₀ para un tipo de célula no objetivo para proporcionar una métrica de selectividad citotóxica. o indicación de la preferencia de destrucción de una célula diana frente a una célula no diana.

35 [0400] La representación de la superficie celular y/o la densidad de una biomolécula diana extracelular determinada (o epítipo extracelular de una biomolécula diana determinada) pueden influir en las aplicaciones para las que pueden usarse más adecuadamente ciertas moléculas que reconocen células de la presente invención. Las diferencias en la representación de la superficie celular y/o la densidad de una biomolécula diana determinada entre células pueden alterar, tanto cuantitativa como cualitativamente, la eficacia de la internalización celular y/o la potencia de citotoxicidad de una molécula de reconocimiento de células determinada de la presente invención. La representación y/o densidad de la superficie celular de una determinada biomolécula diana puede variar mucho entre células positivas para la biomolécula diana o incluso en la misma célula en diferentes puntos del ciclo celular o de la diferenciación celular. La representación de la superficie celular total de una biomolécula diana dada y/o de ciertos epítomos extracelulares de una biomolécula diana dada en una célula o población de células particular se puede determinar usando métodos conocidos por el experto, tales como métodos que implican clasificación de células activadas por fluorescencia. (FACS) citometría de flujo.

45 [0401] Para los fines de la presente invención, la frase "biomolécula objetivo presente de forma nativa en la superficie de una célula" significa que una célula expresa la biomolécula objetivo usando su propia maquinaria interna y localiza la biomolécula objetivo en una superficie celular usando su propia maquinaria interna. de manera que la biomolécula objetivo esté físicamente acoplada a dicha célula y al menos una parte de la biomolécula objetivo sea accesible desde un espacio extracelular, es decir, en la superficie de una célula.

55 [0402] Tal como se usa en el presente documento, los términos "alterado", "alteración" o "alteración" y variantes gramaticales de los mismos, con respecto a una región polipeptídica o característica dentro de un polipéptido se refiere a una alteración de al menos un aminoácido dentro del región o que compone la característica interrumpida. Las alteraciones de aminoácidos incluyen diversas mutaciones, tales como, por ejemplo, una delección, inversión, inserción o sustitución que alteran la secuencia de aminoácidos del polipéptido. Las alteraciones de aminoácidos también incluyen cambios químicos, tales como, por ejemplo, la alteración de uno o más átomos en un grupo funcional de aminoácido o la adición de uno o más átomos a un grupo funcional de aminoácido.

60 [0403] Tal como se usa en el presente documento, "desinmunizado" significa potencial antigénico y/o inmunogénico reducido después de la administración a un cordado en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una región peptídica, una región polipeptídica o un polipéptido de tipo salvaje. Esto incluye una reducción en el potencial antigénico y/o inmunogénico general a pesar de la introducción de uno o más epítomos antigénicos y/o inmunogénicos de novo en comparación con una molécula de referencia. Para determinadas realizaciones, "desinmunizado" significa una molécula que mostró antigenicidad y/o inmunogenicidad reducida después de la administración a un mamífero en comparación con una molécula "parental" de la que se deriva, tal como, por ejemplo,

una toxina Shiga A1 de tipo salvaje. fragmento. En ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga desinmunizado es capaz de exhibir una antigenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia que se reduce en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más que la antigenicidad de la molécula de referencia en las mismas condiciones medidas mediante el mismo ensayo, tal como, por ejemplo, un ensayo conocido por el experto y/o descrito en el presente documento como un ELISA cuantitativo o análisis de transferencia Western. En ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga desinmunizado es capaz de exhibir una inmunogenicidad relativa en comparación con una molécula de referencia que se reduce en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 99 % o mayor que la inmunogenicidad de la molécula de referencia en las mismas condiciones medidas mediante el mismo ensayo, tal como, por ejemplo, un ensayo conocido por el experto y/o descrito. en el presente documento como una medición cuantitativa de anticuerpos antimolécula producidos en un mamífero después de recibir la administración parenteral de la molécula en un momento dado. Las inmunogenicidades relativas de moléculas que reconocen células de ejemplo se pueden determinar usando un ensayo para reacciones inmunes adaptativas (por ejemplo, respuestas de anticuerpos in vivo) o reacciones inmunes innatas a las moléculas que reconocen células después de administraciones parenterales repetidas durante períodos de días, semanas y/o. o meses.

[0404] Las inmunogenicidades relativas de moléculas que reconocen células de ejemplo se determinaron usando un ensayo para respuestas de anticuerpos in vivo a las moléculas que reconocen células después de administraciones parenterales repetidas durante períodos de muchos.

[0405] Para los fines de la presente invención, la frase "células T CD8+ hiperinmunizadas" significa que la molécula de reconocimiento de las células, cuando está presente dentro de una célula cordada nucleada dentro de un cordado vivo, tiene una mayor actividad antigénica y/o inmunogénica. potencial con respecto a la antigenicidad o inmunogenicidad de las células T CD8+ en comparación con la misma molécula que carece de cualquier péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+.

[0406] El término "incluido" y sus variantes gramaticales con respecto a un epítipo de células T o un componente péptido-epítipo de células T de un polipéptido se refiere al reemplazo interno de uno o más aminoácidos dentro de una región polipeptídica con diferentes aminoácidos. para generar una nueva secuencia polipeptídica que comparte el mismo número total de residuos de aminoácidos con la región polipeptídica inicial. Por lo tanto, el término "incluido" no incluye ninguna fusión terminal externa de ningún aminoácido, péptido o componente polipeptídico adicional al polipéptido inicial ni ninguna inserción interna adicional de ningún residuo de aminoácido adicional, sino que incluye sólo sustituciones de aminoácidos existentes. ácidos. El reemplazo interno puede lograrse simplemente mediante sustitución de residuos de aminoácidos o mediante una serie de sustituciones, deleciones, inserciones y/o inversiones. Si se utiliza una inserción de uno o más aminoácidos, entonces se debe eliminar el número equivalente de aminoácidos proximales junto a la inserción para dar como resultado un epítipo de células T incluido. Esto contrasta con el uso del término "incluido" con respecto a un epítipo de células T contenido dentro de un polipéptido de la presente invención para referirse a la inserción de uno o más aminoácidos internamente dentro de un polipéptido dando como resultado un nuevo polipéptido que tiene un mayor número de residuos de aminoácidos en comparación con el polipéptido de partida.

[0407] El término "incluido" y sus variantes gramaticales con respecto a un epítipo de células T contenido dentro de un polipéptido se refiere a la inserción de uno o más aminoácidos dentro de un polipéptido que da como resultado una nueva secuencia de polipéptido que tiene un mayor número de aminoácidos. residuos en comparación con el polipéptido de partida.

[0408] Para los fines de la presente invención, la frase "proximal a un extremo amino" con referencia a la posición de una región polipeptídica efectora de la toxina Shiga de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención se refiere a una distancia en la que al menos un amino El residuo ácido de la región del polipéptido efector de la toxina Shiga está dentro de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más, por ejemplo, hasta 18-20 residuos de aminoácidos, de un amino terminal de la molécula de reconocimiento de células siempre que la molécula de reconocimiento de células sea capaz de exhibir el nivel apropiado de actividad funcional efectora de la toxina Shiga indicada en el presente documento (por ejemplo, un cierto nivel de potencia citotóxica). Por lo tanto, para ciertas realizaciones de la presente invención, cualquier residuo de aminoácido fusionado en el extremo amino al polipéptido efector de la toxina Shiga no debería reducir ninguna función efectora de la toxina Shiga (por ejemplo, obstaculizando estéricamente una estructura cerca del extremo amino de la región del polipéptido efector de la toxina Shiga) de manera que la actividad funcional del polipéptido efector de la toxina Shiga se reduce por debajo del nivel de actividad apropiado requerido en el presente documento.

[0409] Para los fines de la presente invención, la frase "más proximal a un extremo amino" con referencia a la posición de una región polipeptídica efectora de la toxina Shiga dentro de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención en comparación con otro componente (por ejemplo, una región de unión, un objetivo celular, un resto molecular y/o material exógeno adicional) se refiere a una posición en la que al menos un residuo de aminoácido del extremo amino del polipéptido efector de la toxina Shiga está más cerca del extremo amino de un polipéptido lineal. componente de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención en comparación con el otro componente al que se hace referencia.

[0410] Para los fines de la presente invención, la frase "dominio enzimático activo derivado de una subunidad A de un miembro de la familia de toxinas Shiga" se refiere a tener la capacidad de inhibir la síntesis de proteínas mediante un mecanismo catalítico de inactivación de ribosomas. Las actividades enzimáticas de las toxinas Shiga naturales pueden definirse por la capacidad de inhibir la traducción de proteínas usando ensayos conocidos por el experto, tales como, por ejemplo, ensayos in vitro que implican la traducción de ARN en ausencia de células vivas o ensayos in vivo que implican la traducción de ARN en una célula viva. Utilizando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento, la potencia de una actividad enzimática de la toxina Shiga se puede evaluar directamente observando la actividad de la N-glicosidasa hacia el ARN ribosómico (ARNr), tal como, por ejemplo, un ensayo de mellado de ribosomas, y/o indirectamente al observar la inhibición de la función ribosomal y/o la síntesis de proteínas.

[0411] Para los fines de la presente invención, la expresión "región del fragmento A1 de la toxina Shiga" se refiere a una región polipeptídica que consiste esencialmente en un fragmento A1 de la toxina Shiga y/o derivada de un fragmento de toxina A1 Shiga de una toxina Shiga.

[0412] Para los fines de la presente invención, los términos "terminal", "amino terminal" o "carboxi terminal" con respecto a una molécula de reconocimiento de células se refieren generalmente al último residuo de aminoácido de una cadena polipeptídica de la célula. molécula diana (p. ej., una única cadena polipeptídica continua). Una molécula de reconocimiento de células puede comprender más de un polipéptido o proteína y, por tanto, una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede comprender múltiples terminales amino y terminales carboxi. Por ejemplo, el "extremo amino" de una molécula de reconocimiento de células puede definirse por el primer residuo de aminoácido de una cadena polipeptídica que representa el extremo amino-terminal del polipéptido, que generalmente se caracteriza por un residuo de aminoácido inicial que no tener un enlace peptídico con ningún residuo de aminoácido que implique el grupo amino primario del residuo de aminoácido inicial o que implique el nitrógeno equivalente para los residuos de aminoácidos iniciales que son miembros de la clase de residuos de alfa aminoácidos N-alkilados. De manera similar, el "terminal carboxi" de una molécula de reconocimiento de células puede definirse por el último residuo de aminoácido de una cadena polipeptídica que representa el extremo carboxilo terminal del polipéptido, que generalmente se caracteriza por un residuo de aminoácido final que no tener cualquier residuo de aminoácido unido por un enlace peptídico al carbono alfa de su grupo carboxilo primario.

[0413] Para los fines de la presente invención, la frase "región derivada del fragmento de toxina Shiga A1" se refiere a todo o parte de un polipéptido efector de toxina Shiga en el que la región consiste en un polipéptido homólogo a un fragmento de toxina Shiga A1 de origen natural o truncamiento del mismo., tal como, por ejemplo, un polipéptido que consiste en o comprende los aminoácidos 75-239 de SLT-1A (SEQ ID NO: 1), 75-239 de StxA (SEQ ID NO: 2) o 77-238 de (SEQ ID NO: 2) NO:3) o la región equivalente en otra Subunidad A de un miembro de la familia de las toxinas Shiga. El extremo carboxi de una "región derivada del fragmento de toxina Shiga A1" se define, en relación con un fragmento de toxina A1 de Shiga de origen natural, (1) como que termina con el residuo de aminoácido del extremo carboxi que comparte homología con una toxina A1 de Shiga de origen natural. fragmento; (2) terminando en la unión del fragmento A1 y el fragmento A2; (3) terminando con un sitio de escisión por furina o un sitio de escisión por furina interrumpido; y/o (4) terminando con un truncamiento carboxi-terminal de un fragmento de toxina Shiga A1, es decir, el residuo de aminoácido carboxi-terminal que comparte homología con un fragmento de toxina Shiga A1 de origen natural.

[0414] Para los fines de la presente invención, la frase "región carboxi terminal de un fragmento de toxina Shiga A1" se refiere a una región polipeptídica derivada de un fragmento de toxina Shiga A1 de origen natural, comenzando la región con un residuo hidrófobo (por ejemplo, V236 de StxA-A1 y SLT-1A1, y V235 de SLT-2A1) que está seguido por un residuo hidrofóbico y la región que termina con el sitio de escisión por furina conservado entre los polipéptidos del fragmento A1 de la toxina Shiga y que termina en la unión entre el fragmento A1 y el Fragmento A2 en subunidades A nativas de la toxina Shiga. Para los fines de la presente invención, la región carboxi terminal de un fragmento de toxina Shiga A1 incluye una región peptídica derivada del extremo carboxi terminal de un polipéptido del fragmento de toxina Shiga A1, tal como, por ejemplo, una región peptídica que comprende o consiste esencialmente en el grupo carboxi. extremo de un fragmento A1 de la toxina Shiga. Los ejemplos no limitantes de regiones peptídicas derivadas del extremo carboxilo de un fragmento de toxina Shiga A1 incluyen las secuencias de residuos de aminoácidos posicionados de forma nativa desde la posición 236 a la posición 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248., 249, 250 o 251 en variantes de la subunidad A de la toxina Shiga (SEQ ID NO: 1-2 y 4-6); y desde la posición 235 a la posición 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249 o 250 en variantes SLT-2A (SEQ ID NO: 3 y 7-18).

[0415] Para los fines de la presente invención, la frase "proximal al extremo carboxi de un polipéptido del fragmento A1" con respecto a un resto molecular unido y/o región de unión se refiere a estar dentro de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 residuos de aminoácidos del residuo de aminoácido que define el último residuo del polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga.

[0416] Para los fines de la presente invención, la frase "cubre estéricamente el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1" incluye cualquier resto molecular de un tamaño de 4,5 kDa o mayor (por ejemplo, una región de unión de tipo inmunoglobulina) unido y /o fusionado a un residuo de aminoácido en el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1, tal como, por ejemplo, el residuo de aminoácido derivado del residuo de aminoácido

5 posicionado de forma nativa en cualquiera de las posiciones 236 a 251 en variantes de la toxina Shiga (SEQ ID NO: 1-2 y 4-6) o de 235 a 250 en variantes SLT-2A (SEQ ID NO: 3 y 7-18). Para los fines de la presente invención, la frase "cubre estéricamente el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1" también incluye cualquier resto molecular de un tamaño de 4,5 kDa o mayor (por ejemplo, una región de unión de tipo inmunoglobulina) unido y/o
 10 fusionado a un residuo de aminoácido en el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1, tal como, por ejemplo, el residuo de aminoácido carboxi terminal a la última región derivada del fragmento A1 de aminoácido y/o el polipéptido efector de la toxina Shiga. Para los fines de la presente invención, la frase "cubre estéricamente el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1" también incluye cualquier resto molecular de un tamaño de 4,5 kDa o mayor (por ejemplo, una región de unión de tipo inmunoglobulina) que impida físicamente el reconocimiento celular.
 del extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1, tal como, por ejemplo, el reconocimiento por la maquinaria ERAD de una célula eucariota.

15 [0417] Para los fines de la presente invención, una región de unión, tal como, por ejemplo, una región de unión de tipo inmunoglobulina, que comprende un polipéptido que comprende al menos cuarenta aminoácidos y que está unido (por ejemplo, fusionado) al extremo carboxi de la región polipeptídica efectora de la toxina Shiga que comprende una región derivada del fragmento A1 es un resto molecular que "cubre estéricamente el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1".

20 [0418] Para los fines de la presente invención, una región de unión, tal como, por ejemplo, una región de unión de tipo inmunoglobulina, que comprende un polipéptido que comprende al menos cuarenta aminoácidos y que está unido (por ejemplo, fusionado) al extremo carboxi de la región polipeptídica efectora de la toxina Shiga que comprende una región derivada del fragmento A1 es un resto molecular "que ocupa el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1".

25 [0419] Para los fines de la presente invención, el término "fragmento A1 de un miembro de la familia de la toxina Shiga" se refiere al fragmento amino terminal restante de una subunidad A de la toxina Shiga después de la proteólisis por furina en el sitio de escisión por furina conservado entre Subunidades A de la toxina Shiga y posicionadas entre el fragmento A1 y el fragmento A2 en las Subunidades A de la toxina Shiga de tipo salvaje.

30 [0420] Para los fines de la presente invención reivindicada, la frase "motivo de escisión por furina en el extremo carboxi de la región del fragmento A1" se refiere a un motivo de escisión por furina específico conservado entre las subunidades A de la toxina Shiga y que une la unión entre el fragmento A1. y el fragmento A2 en las subunidades A de la toxina Shiga de origen natural.

35 [0421] Para los fines de la presente invención, la frase "sitio de escisión por furina proximal al extremo carboxi de la región del fragmento A1" se refiere a cualquier sitio de escisión por furina identificable que tenga un residuo de aminoácido dentro de una distancia de menos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más residuos de aminoácidos del residuo de aminoácido que define el último residuo de aminoácido en la región del fragmento A1 o en la región derivada del fragmento A1, incluido un motivo de escisión por furina ubicado en el carboxi-terminal de una región del fragmento A1 o una región derivada del fragmento A1, tal como, por ejemplo, en una posición proximal al enlace de la región derivada del fragmento A1 con otro componente de la molécula, tal como, por ejemplo, un resto molecular de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención.
 40

45 [0422] Para los fines de la presente invención, la frase "motivo de escisión por furina interrumpido" se refiere a (i) un motivo de escisión por furina específico como se describe en el presente documento y (ii) que comprende una mutación y/o truncamiento que puede conferir una molécula con una reducción en la escisión por furina en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una reducción en la escisión por furina observada de manera reproducible que es del 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o menos (incluido el 100 % sin escisión) que la escisión con furina de una molécula de referencia observada en el mismo ensayo en las mismas condiciones. El porcentaje de escisión por furina en comparación con una molécula de referencia se puede expresar como una proporción de material escindido: no escindido de la molécula de interés dividido por el material escindido: no escindido de la molécula de referencia (ver, por ejemplo, WO 2015/191764; US 2016/ 0177284). Los ejemplos no limitantes de moléculas de referencia adecuadas incluyen ciertas moléculas que comprenden un motivo de escisión por furina de toxina Shiga de tipo salvaje y/o un sitio de escisión por furina como se describe en el presente documento
 50 y/o moléculas utilizadas en los ejemplos siguientes.

55 [0423] Para los fines de la presente invención, la frase "resistente a la escisión por furina" significa que una molécula o región polipeptídica específica de la misma exhibe de manera reproducible menos escisión por furina que (i) el extremo carboxilo de un fragmento A1 de toxina Shiga en un Shiga de tipo salvaje. subunidad de toxina A o (ii) el extremo carboxi de la región de construcción derivada del fragmento de toxina Shiga A1 en la que el sitio de escisión por furina de origen natural situado de forma nativa en la unión entre los fragmentos A1 y A2 no está alterado; según se analiza mediante cualquier medio disponible para el trabajador experto, incluido el uso de un método descrito en el presente documento.
 60

65 [0424] Para los fines de la presente invención, la frase "dominio enzimático activo derivado de una subunidad A de un miembro de la familia de la toxina Shiga" se refiere a una estructura polipeptídica que tiene la capacidad de inhibir la

síntesis de proteínas mediante la inactivación catalítica de un ribosoma basado en una actividad enzimática de la toxina Shiga. La capacidad de una estructura molecular para exhibir actividad inhibitoria de la síntesis de proteínas y/o inactivación catalítica de un ribosoma se puede observar usando diversos ensayos conocidos por el experto, tales como, por ejemplo, ensayos in vitro que implican ensayos de traducción de ARN en ausencia de organismos vivos. células o ensayos in vivo que involucran los ribosomas de células vivas. Por ejemplo, usando ensayos conocidos por el experto, la actividad enzimática de una molécula basada en una actividad enzimática de la toxina Shiga se puede evaluar directamente observando la actividad de la N-glicosidasa hacia el ARN ribosómico (ARNr), tal como, por ejemplo, un ensayo de mellado de ribosomas. y/o indirectamente al observar la inhibición de la función ribosomal, la traducción del ARN y/o la síntesis de proteínas.

[0425] Tal como se usa en el presente documento con respecto a un polipéptido efector de la toxina Shiga, una "combinación" describe un polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende dos o más subregiones en donde cada subregión comprende al menos uno de los siguientes: (1) una alteración en un epítipo endógeno o región de epítipo y (2) un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi de una región derivada del fragmento A1 de la toxina Shiga.

[0426] Tal como se usa en el presente documento, el término "multivalente" con respecto a una molécula de reconocimiento de células se refiere a una molécula de unión a diana individual o una pluralidad de moléculas de unión a diana que comprenden dos o más regiones de unión de alta afinidad, tales como, por ejemplo, una proteína que comprende dos o más regiones de unión en la que cada región de unión individual tiene una constante de disociación de 10^{-5} a 10^{-12} moles por litro hacia una parte extracelular de una biomolécula diana.

[0427] Tal como se usa en el presente documento, el término "monomérico" con respecto a la descripción de una proteína y/o molécula proteica se refiere a una molécula que comprende solo un componente polipeptídico que consiste en un único polipéptido continuo, independientemente de su estructura secundaria o terciaria, que puede ser sintetizado por un ribosoma a partir de una única plantilla de polinucleótido, incluido un polipéptido lineal continuo que a continuación forma una estructura cíclica. Por el contrario, una molécula multimérica comprende dos o más polipéptidos (por ejemplo, subunidades) que juntos no forman un único polipéptido continuo que pueda ser sintetizado por un ribosoma a partir de una única plantilla de polinucleótido.

[0428] Tal como se usa en el presente documento, el término "multimérico" con respecto a la descripción de una proteína y/o molécula proteica se refiere a una molécula que comprende dos o más componentes polipeptídicos individuales asociados entre sí y/o unidos entre sí, tales como, por ejemplo, Molécula que consta de dos componentes, cada uno de los cuales es su propio polipéptido continuo. Por ejemplo, la asociación o enlace entre componentes de una molécula puede incluir 1) una o más interacciones no covalentes; 2) una o más interacciones covalentes postraduccionales; 3) una o más conjugaciones químicas covalentes; y/o 4) una o más interacciones covalentes que dan como resultado una única molécula que comprende un polipéptido no lineal, tal como, por ejemplo, una estructura polipeptídica ramificada o cíclica, resultante de la disposición de los dos o más componentes polipeptídicos. Una molécula que comprende dos polipéptidos discontinuos como resultado de la escisión proteolítica de uno o más enlaces peptídicos en un único polipéptido continuo sintetizado por un ribosoma a partir de una única plantilla de polinucleótido es "multimérica" y no "monomérica".

[0429] La presente invención se describe más completamente a continuación utilizando realizaciones ilustrativas, no limitantes, y referencias a las figuras adjuntas. Sin embargo, esta invención puede realizarse de muchas formas diferentes dentro del alcance de las reivindicaciones y no debe interpretarse como limitada a las realizaciones expuestas a continuación. Más bien, estas realizaciones se proporcionan para que esta divulgación sea exhaustiva y transmita el alcance de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones a los expertos en la técnica.

Introducción

[0430] Puede ser posible aprovechar el poder del sistema inmunológico induciendo reacciones inmunes similares a infecciones específicamente hacia células malignas (por ejemplo, células tumorales) y/o loci de tejido malignos (por ejemplo, tumores) dentro de un paciente específicamente usando un agente altamente inmunogénico., epítipo extraño de un agente infeccioso para activar localmente una variedad de respuestas inmunes beneficiosas y marcar específicamente las células objetivo (por ejemplo, células tumorales) como extrañas mediante la inducción de una imitación de un estado infectado. Alternativamente, este enfoque podría usar neoepítipos altamente inmunogénicos (derivados de agentes infecciosos o no infecciosos) o epítipos no propios altamente inmunogénicos derivados de agentes no infecciosos, tales como, por ejemplo, antígenos específicos de tumores, antígenos asociados a tumores, y moléculas de plantas, hongos, etc.

[0431] La presente invención, tal como se define en las reivindicaciones, explota las capacidades de los polipéptidos derivados de la subunidad A de la toxina Shiga para impulsar su propio enrutamiento subcelular con el fin de administrar antígenos de células T CD8+ altamente inmunogénicos, tales como, por ejemplo, epítipos peptídicos, al MHC. Sistema de presentación de clase I de una célula cordada. La presente invención proporciona varios constructos de ejemplo derivados de la subunidad A de la toxina Shiga capaces de administrar epítipos de células T CD8+ heterólogos al sistema MHC de clase I de una célula diana, lo que da como resultado la presentación en la superficie

celular del epítipo administrado en el que los componentes del polipéptido efector de la toxina Shiga comprenden una combinación de mutaciones que proporcionan (1) desinmunización, (2) una reducción de la sensibilidad a la furina proteasa y (3) un epítipo de células T incluido. Ciertos epitopos peptídicos presentados en complejos con moléculas de MHC de clase I en una superficie celular pueden indicar a las células T efectoras CD8+ que maten a la célula presentadora y estimulen otras respuestas inmunitarias en el área local. Por lo tanto, la presente invención proporciona moléculas que reconocen células derivadas de la subunidad A de la toxina Shiga, como se define en las reivindicaciones, que matan células diana específicas, tal como, por ejemplo, mediante la presentación de ciertos péptidos-epitopos de células T CD8+ mediante la vía del MHC de clase I. Las moléculas que reconocen células de la presente invención se pueden utilizar, por ejemplo, como moléculas destructoras de células, agentes terapéuticos citotóxicos, agentes de administración terapéutica y moléculas de diagnóstico.

I. La estructura general de las moléculas que reconocen células de la presente invención

[0432] Las moléculas que reconocen células de la presente invención como se define en las reivindicaciones comprenden cada una 1) una región de unión de reconocimiento de células como se define en las reivindicaciones, 2) un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga como se define en las reivindicaciones, y 3) una carga de epítipo de células T CD8+, como se define en las reivindicaciones, que no está incluida ni incluida en la región del fragmento A1 de la toxina Shiga y que es heteróloga a las subunidades A de la toxina Shiga y a la región de unión de la molécula. Este sistema es modular, en el sentido de que se puede utilizar cualquier número de diversos péptidos-epitopos de células T CD8+ como cargas para la administración a la vía de presentación del MHC de clase I de las células diana mediante las moléculas que reconocen células de la presente invención.

A. Las estructuras generales de los componentes del polipéptido efector de la toxina Shiga de las moléculas que reconocen células de la presente invención

[0433] La molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende al menos un polipéptido efector de la toxina Shiga derivado de subunidades A de la toxina Shiga de tipo salvaje pero que comprende una o más modificaciones estructurales, tales como, por ejemplo, una mutación como un truncamiento y/o o sustitución(es) de residuos de aminoácidos. La presente invención implica la ingeniería de polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga mejorados que comprenden la combinación de las siguientes subregiones del polipéptido efector de la toxina Shiga: (1) una subregión desinmunizada, (2) una subregión resistente a la escisión por proteasas. región cerca del extremo carboxi de una región del fragmento A1 de la toxina Shiga, y (3) una subregión incluida en un péptido-epítipo de células T.

[0434] Un polipéptido efector de la toxina Shiga de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención es un polipéptido derivado de un miembro de la subunidad A de la toxina Shiga de la familia de las toxinas Shiga que es capaz de exhibir una o más funciones de la toxina Shiga. Existen numerosos polipéptidos efectores de la toxina Shiga que son adecuados para su uso en la presente invención o para su uso como polipéptidos parentales para ser modificados en un polipéptido efector de la toxina Shiga de la presente invención usando técnicas conocidas en la técnica (ver, por ejemplo, Cheung M et al., Mol Cancer 9: 28 (2010); WO 2014/164693; WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2015/138452; WO 2015/191764). Las funciones de la toxina Shiga incluyen, por ejemplo, promover la entrada celular, aumentar la internalización celular, dirigir el transporte retrógrado, dirigir el encaminamiento subcelular, dirigir el encaminamiento subcelular desde un compartimento endosómico al citosol, evitar la degradación intracelular, inactivar catalíticamente los ribosomas, efectuar citotoxicidad y efectuar efectos citostáticos.

[0435] La familia de toxinas proteicas de la toxina Shiga está compuesta por varias toxinas naturales que están relacionadas estructural y funcionalmente, por ejemplo, toxina Shiga, toxina tipo Shiga 1 y toxina tipo Shiga 2 (Johannes L, Römer W, Nat Rev. Microbiol 8: 105-16 (2010)). Los miembros de las holotoxinas de la familia de las toxinas Shiga contienen dominios de dirección que se unen preferentemente a un glicosfingolípido específico presente en la superficie de algunas células huésped y un dominio enzimático capaz de inactivar permanentemente los ribosomas una vez dentro de una célula (Johannes L, Römer W, Nat Rev Microbiol 8: 105 -16 (2010)). Los miembros de la familia de toxinas Shiga comparten la misma estructura general y mecanismo de acción (Engedal N et al., Microbial Biotech 4: 32-46 (2011)). Por ejemplo, Stx, SLT-1 y SLT-2 muestran actividad enzimática indistinguible en sistemas libres de células (Head S et al., J Biol Chem 266: 3617-21 (1991); Tesh V et al., Infect Immun 61: 3392 - 402 (1993); Brigotti M et al., Toxicon 35: 1431-7 (1997)).

[0436] La familia de la toxina Shiga abarca la toxina Shiga verdadera (Stx) aislada de *S. Dysenteriae* serotipo 1, variantes de la toxina 1 similar a Shiga (SLT1 o Stx1 o SLT-1 o SlT-1) aisladas de serotipos de *E. coli* enterohemorrágica, y variantes de la toxina similar a Shiga 2 (SLT2 o Stx2 o SLT-2) aisladas de serotipos de *E. coli* enterohemorrágica. SLT1 se diferencia de Stx en sólo un residuo de aminoácido, y ambas se han denominado verocitotoxinas o verotoxinas (VT) (O'Brien A, Curr Top Microbiol Immunol 180: 65-94 (1992)). Aunque las variantes SLT1 y SLT2 son sólo aproximadamente un 53-60% similares entre sí a nivel de secuencia de aminoácidos primarios, comparten mecanismos de actividad enzimática y citotoxicidad comunes a los miembros de la familia de toxinas Shiga (Johannes L, Römer W, Nat Rev Microbiol 8: 105-16 (2010)). Se han descrito más de 39 toxinas Shiga diferentes, como los subtipos definidos Stxla, Stxlc, Stxld, Stxle, Stx2a-g y Stx2dact (Scheutz F et al., J Clin Microbiol 50: 2951-63 (2012); Probert W et al., J Clin Microbiol 52: 2346-51 (2014)). Los miembros de la familia de la toxina Shiga no están

restringidos naturalmente a ninguna especie bacteriana porque los genes que codifican la toxina Shiga pueden propagarse entre especies bacterianas mediante transferencia horizontal de genes (Strauch E et al., *Infect Immun* 69: 7588-95 (2001); Bielaszewska M. et al., *Appl Environ Microbiol* 73: 3144-50 (2007); Zhaxybayeva O, Doolittle W, *Curr Biol* 21: R242-6 (2011); Kruger A, Lucchesi P, *Microbiology* 161: 451-62 (2015)). Como ejemplo de transferencia entre especies, se descubrió una toxina Shiga en una cepa de *A. haemolyticus* aislada de un paciente (Grotiuz G et al., *J Clin Microbiol* 44: 3838-41 (2006)). Una vez que un polinucleótido que codifica la toxina Shiga entra en una nueva subespecie o especie, se supone que la secuencia de aminoácidos de la toxina Shiga es capaz de desarrollar ligeras variaciones de secuencia debido a la deriva genética y/o la presión selectiva manteniendo al mismo tiempo un mecanismo de citotoxicidad común a los miembros de la especie. Familia de toxinas Shiga (ver Scheutz F et al., *J Clin Microbiol* 50: 2951-63 (2012)).

1. Polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizados

[0437] El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 está desinmunizado, tal como, por ejemplo, en comparación con una toxina Shiga de tipo salvaje., polipéptido de toxina Shiga de tipo salvaje y/o polipéptido efector de toxina Shiga que comprende sólo secuencias de polipéptidos de tipo salvaje. El polipéptido efector de la toxina Shiga desinmunizado comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una alteración de al menos una región epítipo putativa endógena para reducir el potencial antigénico y/o inmunogénico del efector de la toxina Shiga. polipéptido después de la administración del polipéptido a un cordado. Un polipéptido efector de la toxina Shiga y/o un polipéptido de la subunidad A de la toxina Shiga, ya sea de origen natural o no, se puede desinmunizar mediante un método descrito en el presente documento, descrito en los documentos WO 2015/113005, WO 2015/113007 y/o WO 2016/196344., y/o conocido por el experto, en el que la molécula resultante conserva una o más funciones de la subunidad A de la toxina Shiga.

[0438] Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga comprendidos dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprenden o consisten esencialmente en un polipéptido derivado de una subunidad A de la toxina Shiga disociada de cualquier forma de su subunidad B de toxina Shiga nativa. Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga de la presente invención no comprenden el dominio dirigido a células de una subunidad B de la toxina Shiga. Las toxinas Shiga arquetípicas se dirigen naturalmente a los receptores de la superficie celular humana globotriaosilceramida (Gb3, Gb3Cer o CD77) y globotetraosilceramida (Gb4 o Gb4Cer) a través de la subunidad B de la toxina Shiga, lo que limita gravemente las posibles aplicaciones al restringir los tipos de células objetivo y la orientación potencialmente no deseada de células endoteliales vasculares, ciertas células epiteliales renales y/o células epiteliales respiratorias (Tesh V et al., *Infect Immun* 61: 3392-402 (1993); Ling H et al., *Biochemistry* 37: 1777-88 (1998); Bast D et al., *Mol Microbiol* 32: 953-60 (1999); Rutjes N et al., *Kidney Int* 62: 832-45 (2002); Shimizu T et al., *Microb Pathog* 43: 88-95 (2007); Pina D et al., *Biochim Biophys Acta* 1768: 628-36 (2007); Shin I et al., *BMB Rep* 42: 310-4 (2009); Zumbun S et al., *Infect Immun* 44: 488-99 (2010); Engedal N et al., *Microb Biotechnol* 4: 32-46 (2011); Gallegos K et al., *PLoS ONE* 7: e30368 (2012); Ståhl A et al., *PLoS Pathog* 11: e1004619 (2015)). Gb3 y Gb4 son un esfingolípido neutro común presente en la valva extracelular de las membranas celulares de diversos tipos de células sanas, como los leucocitos polimorfonucleares y las células endoteliales humanas de diversos lechos vasculares. Las moléculas que reconocen células de la presente invención no comprenden ningún polipéptido que comprenda o consista esencialmente en un dominio de unión funcional de una subunidad B de la toxina Shiga nativa. Más bien, los polipéptidos efectores de la toxina Shiga comprendidos dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención están asociados funcionalmente con regiones de unión heterólogas para efectuar la dirección celular, como se define en las reivindicaciones.

[0439] En ciertas realizaciones, un polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) puede comprender o consistir esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga de longitud completa (por ejemplo, cualquier una de las SEQ ID NO: 1-18), señalando que las subunidades de toxina A Shiga de origen natural pueden comprender formas precursoras que contienen secuencias señal de aproximadamente 22 aminoácidos en sus terminales amino que se eliminan para producir subunidades maduras de toxina A Shiga y son reconocibles para el trabajador calificado. En otras realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprende o consiste esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada que es más corta que una subunidad A de toxina Shiga de longitud completa, tal como, por ejemplo, un truncamiento conocido en la técnica (ver, por ejemplo, WO 2014/164693; WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2015/138452; WO 2015/191764).

[0440] El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 comprende una alteración de un epítipo endógeno de células B y/o células T CD4+. El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una alteración de al menos una región epítipo endógena descrita en el presente documento, en la que la alteración reduce el potencial antigénico y/o inmunogénico del polipéptido efector de la toxina Shiga después de la administración. del polipéptido a un cordado, y en el que el polipéptido efector de la toxina Shiga es capaz de exhibir una o más funciones de la Subunidad A de la toxina Shiga, tales como, por ejemplo, un nivel significativo de citotoxicidad de la toxina Shiga.

[0441] El término "alterado" o "alteración" como se usa en el presente documento con respecto a una región de epítipo se refiere a la eliminación de al menos un residuo de aminoácido en una región de epítipo, inversión de dos o más residuos de aminoácidos donde al menos uno de los residuos de aminoácidos invertidos están en una región de epítipo, la inserción de al menos un aminoácido en una región de epítipo y una sustitución de al menos un residuo de aminoácido en una región de epítipo. Una alteración de la región del epítipo por mutación incluye sustituciones de aminoácidos con aminoácidos no estándar y/o aminoácidos no naturales. Alternativamente, las regiones de epítipo pueden alterarse mediante mutaciones que comprenden la modificación de un aminoácido mediante la adición de una estructura química unida covalentemente que enmascara al menos un aminoácido en una región de epítipo, véase, por ejemplo, PEGilación (véase Zhang C et al., *BioDrugs* 26: 209-15 (2012), adyuvantes de moléculas pequeñas (Flower D, *Expert Opin Drug Discov* 7: 807-17 (2012) y albuminación de sitio específico (Lim S et al., *J Control Release* 207-93 (2015)).

[0442] Ciertas regiones de epítipos y alteraciones se indican en el presente documento mediante referencia a posiciones de aminoácidos específicas de las subunidades A de la toxina Shiga nativa proporcionadas en el listado de secuencias, señalando que las subunidades de la toxina A Shiga de origen natural pueden comprender formas precursoras que contienen secuencias señal de aproximadamente 22 aminoácidos. en sus terminales amino que se eliminan para producir subunidades A de toxina Shiga maduras y son reconocibles para el trabajador cualificado. Además, ciertas alteraciones de la región del epítipo se indican en el presente documento mediante referencia a aminoácidos específicos (por ejemplo, S para un residuo de serina) presentes de forma nativa en posiciones específicas dentro de las subunidades A de la toxina Shiga nativa (por ejemplo, S33 para el residuo de serina en la posición 33 del extremo amino). seguido del aminoácido con el que se ha sustituido ese residuo en la mutación particular en discusión (por ejemplo, S331 representa la sustitución del aminoácido de isoleucina por serina en el residuo de aminoácido 33 del extremo amino).

[0443] El polipéptido efector de la toxina Shiga desinmunizado comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una alteración de al menos una región del epítipo descrita en los documentos WO 2015/113005, WO 2015/113007 y/o WO 2016/196344.

[0444] En ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga desinmunizado comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) comprende o consiste esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga de longitud completa. (por ejemplo, SLT-1A (SEQ ID NO: 1), StxA (SEQ ID NO: 2) o SLT-2A (SEQ ID NO: 3), o variantes de los mismos (por ejemplo, SEQ ID NO: 4-18)) que comprende al menos una alteración de la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de aminoácidos posicionados de forma nativa que consiste en: 1-15 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; 3-14 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; 26-37 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; 27-37 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; 39-48 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; 42-48 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; y 53-66 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-18; 94-115 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-18; 141-153 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; 140-156 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; 179-190 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; 179-191 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; 204 de SEQ ID NO: 3; 205 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; y 210-218 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; 240-260 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; 243-257 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; 254-268 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; 262-278 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; 281-297 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3 y 7-18; y 285-293 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6; o la región equivalente en un polipéptido de la subunidad A de la toxina Shiga, una subregión del polipéptido efector de la toxina Shiga conservada y/o una secuencia del polipéptido efector de la toxina Shiga no nativa.

[0445] El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una subunidad A truncada de la toxina Shiga. Los truncamientos de las subunidades A de la toxina Shiga pueden dar como resultado la eliminación de una región o regiones epítipos completas sin afectar las funciones efectoras de la toxina Shiga. El fragmento más pequeño de la subunidad A de la toxina Shiga que mostró una actividad enzimática significativa fue un polipéptido compuesto por los residuos 75-247 de StxA (Al-Jaufy A et al., *Infect Immun* 62: 956-60 (1994)). Al truncar el extremo carboxi terminal de SLT-1A, StxA o SLT-2A a los aminoácidos 1-251 se eliminan dos regiones de epítipos de células B previstas, dos epítipos de células T CD4 positivos (CD4+) previstos y un epítipo de células B discontinuo previsto. -epítipo celular. Truncar el extremo amino de SLT-1A, StxA o SLT-2A a 75-293 elimina al menos tres regiones de epítipos de células B predichas y tres epítipos de células T CD4+ predichos. El truncamiento de los terminales amino y carboxi de SLT-1A, StxA o SLT-2A a 75-251 elimina al menos cinco regiones de epítipos de células B predichas; cuatro epítipos putativos de células T CD4+; y un epítipo de células B, predicho y discontinuo.

[0446] En ciertas realizaciones, un polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) puede comprender o consistir esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada o de longitud completa con al menos una mutación, por ejemplo, eliminación, inserción, inversión o sustitución, en una región de epítipo proporcionada. En ciertas realizaciones adicionales de la divulgación, los polipéptidos comprenden una alteración que comprende una eliminación de al menos un aminoácido dentro de la región del epítipo. En ciertas realizaciones adicionales de la divulgación, los polipéptidos comprenden una alteración que comprende una inserción de al menos un aminoácido

dentro de la región del epítipo. En ciertas realizaciones adicionales de la divulgación, los polipéptidos comprenden una disrupción que comprende una inversión de aminoácidos, en donde al menos un aminoácido invertido está dentro de la región del epítipo. En ciertas realizaciones adicionales de la divulgación, los polipéptidos comprenden una alteración que comprende una mutación, tal como una sustitución de un aminoácido por un aminoácido no estándar o un aminoácido con una cadena lateral modificada químicamente. En los ejemplos siguientes se proporcionan numerosos ejemplos de sustituciones de aminoácidos individuales.

[0447] En ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) puede comprender o consistir esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada o de longitud completa con una o más mutaciones en comparación con la secuencia nativa que comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: A, G, V, L, I, P, C, M, F, S, D, N, Q, H, y K. En ciertas realizaciones adicionales de la divulgación, el polipéptido puede comprender o consistir esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada o de longitud completa con una única mutación en comparación con la secuencia nativa en la que la sustitución se selecciona del grupo que consiste de: D a A, D a G, D a V, D a L, D a I, D a F, D a S, D a Q, E a A, E a G, E a V, E a L, E a I, E a F, E a S, E a Q, E a N, E a D, E a M, E a R, G a A, H a A, H a G, H a V, H a L, H a I, H a F, H a M, K a A, K a G, K a V, K a L, K a I, K a M, K a H, L a A, L a G, N a A, N a G, N a V, N a L, N a I, N a F, P a A, P a G, P a F, R a A, R a G, R a V, R a L, R a I, R a F, R a M, R a Q, R a S, R a K, R a H, S a A, S a G, S a V, S a L, S a I, S a F, S a M, T a A, T a G, T a V, T a L, T a I, T a F, T a M, T a S, Yto A, Y a G, Yto V, Yto L, Yto I, Yto F e Yto M.

[0448] En ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) comprende o consiste esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada o de longitud completa con una o más mutaciones en comparación con la secuencia de residuos de aminoácidos nativa que comprende al menos una sustitución de aminoácidos de un residuo inmunogénico y/o dentro de una región epítipo, en donde al menos una sustitución ocurre en el grupo de aminoácidos posicionado de forma nativa seleccionado del grupo que consiste de: 1 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 4 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 8 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 9 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 11 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 33 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 43 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 44 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 45 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 46 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 47 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 48 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 49 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 50 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 51 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 53 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 54 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 55 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 56 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 57 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 58 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 59 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 60 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 61 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 62 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 84 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 88 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 94 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 96 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 104 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 105 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 107 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 108 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 109 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 110 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 111 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 112 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 141 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 147 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 154 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 179 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 180 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 181 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 183 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 184 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 185 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 186 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 187 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 188 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 189 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 198 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 204 de SEQ ID NO: 3; 205 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 241 de SEQ ID NO: 3; 242 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 247 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 247 de SEQ ID NO: 3; 248 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 250 de SEQ ID NO: 3; 251 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 264 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 265 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; y 286 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

[0449] En ciertas realizaciones adicionales, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) comprende o consiste esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada o de longitud completa con al menos al menos una sustitución de un residuo inmunogénico y/o dentro de una región epítipo, en donde al menos una sustitución de aminoácido es a un aminoácido no conservativo (ver, por ejemplo, Tabla B, más adelante) con respecto a un aminoácido de origen nativo posicionado en uno de las siguientes posiciones nativas: 1 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 4 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 8 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 9 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 11 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 33 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 43 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 44 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 45 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 46 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 47 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 48 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 49 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 50 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 51 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 53 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 54 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 55 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 56 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 57 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 58 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 59 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 60 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 61 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 62 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 84 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 88 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 94 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3;

96 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 104 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 105 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 107 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 108 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 109 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 110 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 111 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 112 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 141 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 147 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 154 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 179 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 180 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 181 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 183 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 184 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 185 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 186 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 187 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 188 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 189 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 198 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 204 de SEQ ID NO: 3; 205 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 241 de SEQ ID NO: 3; 242 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 247 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 247 de SEQ ID NO: 3; 248 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 250 de SEQ ID NO: 3; 251 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; 264 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3; 265 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2; y 286 de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

[0450] En ciertas realizaciones adicionales, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) comprende o consiste esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada o de longitud completa con al menos al menos una sustitución de aminoácido seleccionada del grupo que consiste en: K1 a A, G, V, L, I, F, M y H; T4 a A, G, V, L, I, F, M y S; D6 a A, G, V, L, I, F, S y Q; S8 a A, G, V, I, L, F y M; T8 a A, G, V, I, L, F, M y S; T9 a A, G, V, I, L, F, M y S; S9 a A, G, V, L, I, F y M; K11 a A, G, V, L, I, F, M y H; T12 a A, G, V, I, L, F, M y S; S33 a A, G, V, L, I, F y M; S43 a A, G, V, L, I, F y M; G44 a A y L; S45 a A, G, V, L, I, F y M; T45 a A, G, V, L, I, F y M; G46 a A y P; D47 a A, G, V, L, I, F, S y Q; N48 a A, G, V, L y M; L49 a A o G; F50; A51 a V; D53 a A, G, V, L, I, F, S y Q; V54 a A, G y L; R55 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; G56 a A y P; 157 a A, G, M y F; L57 a A, G, M y F; D58 a A, G, V, L, I, F, S y Q; P59 a A, G y F; E60 a A, G, V, L, I, F, S, Q, N, D, M y R; E61 a A, G, V, L, I, F, S, Q, N, D, M y R; G62 a A; D94 a A, G, V, L, I, F, S y Q; R84 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; V88 a A y G; 188 a A, G y V; D94; S96 a A, G, V, I, L, F y M; T104 a A, G, V, I, L, F, M y S; A105 a L; T107 a A, G, V, I, L, F, M y S; S107 a A, G, V, L, I, F y M; L108 a A, G y M; S109 a A, G, V, I, L, F y M; T109 a A, G, V, I, L, F, M y S; G110 a A; D111 a A, G, V, L, I, F, S y Q; S112 a A, G, V, L, I, F y M; D141 a A, G, V, L, I, F, S y Q; G147 a A; V154 a A y G; R179 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; T180 a A, G, V, L, I, F, M y S; T181 a A, G, V, L, I, F, M y S; D183 a A, G, V, L, I, F, S y Q; D184 a A, G, V, L, I, F, S y Q; L185 a A, G y V; S186 a A, G, V, I, L, F y M; G187 a A; R188 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; S189 a A, G, V, I, L, F y M; D197 a A, G, V, L, I, F, S y Q; D198 a A, G, V, L, I, F, S y Q; R204 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; R205 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; C242 a A, G, V y S; S247 a A, G, V, I, L, F y M; Y247 a A, G, V, L, I, F y M; R248 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; R250 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; R251 a A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K y H; C262 a A, G, V y S; D264 a A, G, V, L, I, F, S y Q; G264 a A; y T286 a A, G, V, L, I, F, M y S.

[0451] En ciertas realizaciones adicionales, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) comprende o consiste esencialmente en una subunidad A de toxina Shiga truncada o de longitud completa con al menos al menos una de las siguientes sustituciones de aminoácidos K1A, K1M, T4I, D6R, S8I, T8V, T9I, S9I, K11A, K11H, T12K, S33I, S33C, S43N, G44L, S45V, S45I, T45V, T45I, G46P, D47M, D47G, N48V, N48F, L49A, F50T, A51V, D53A, D53N, D53G, V54L, V54I, R55A, R55V, R55L, G56P, I57F, I57M, D58A, D58V, D58F, P59A, P59F, E60I, E60T, E60R, E61A, E61V, E61L, G62A, R84A, V88A, D94A, S96I, T104N, A105L, T107P, L108M, S109V, T109V, G110A, D111T, S112V, D141A, G147A, V154A, R179A, T180G, T181I, D183A, D183G, D184A, D184A, D184F, L185V, L185D, S186A, S186F, G187A, G187T, R188A, R188L, S189A, D198A, R204A, R205A, C242S, S247I, Y247A, R248A, R250A, R251 A, o D264A, G264A, T286A y /o T286I. Estas sustituciones disruptoras de epítomos pueden combinarse para formar un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado con múltiples sustituciones por región de epítomo y/o múltiples regiones de epítomo interrumpidas mientras aún se conserva la función efectora de toxina Shiga. Por ejemplo, sustituciones en las posiciones nativas K1A, K1M, T4I, D6R, S8I, T8V, T9I, S9I, K11A, K11H, T12K, S33I, S33C, S43N, G44L, S45V, S45I, T45V, T45I, G46P, D47M, D47G, N48V, N48F, L49A, F50T, A51V, D53A, D53N, D53G, V54L, V54I, R55A, R55V, R55L, G56P, I57F, I57M, D58A, D58V, D58F, P59A, P59F, E60I, E60T, E60R, E61A, E61V, E61L, G62A, R84A, V88A, D94A, S96I, T104N, A105L, T107P, L108M, S109V, T109V, G110A, D111T, S112V, D141A, G147A, V154A, R179A, T180G, T181I, D183A, D183G, D184A, D184A, D184F, L185V, L185D, S186A, S186F, G187A, G187T, R188A, R188L, S189A, D198A, R204A, R205A, C242S, S247I, Y247A, R248A, R250A, R251 A, o D264A, G264A, T286A y /o T286I se puede combinar, cuando sea posible, con sustituciones en los residuos posicionados de forma nativa K1A, K1M, T4I, D6R, S8I, T8V, T9I, S9I, K11A, K11H, T12K, S33I, S33C, S43N, G44L, S45V, S45I, T45V, T45I, G46P, D47M, D47G, N48V, N48F, L49A, F50T, A51V, D53A, D53N, D53G, V54L, V54I, R55A, R55V, R55L, G56P, I57F, I57M, D58A, D58V, D58F, P59A, P59F, E60I, E60T, E60R, E61A, E61V, E61L, G62A, R84A, V88A, D94A, S96I, T104N, A105L, T107P, L108M, S109V, T109V, G110A, D111T, S112V, D141A, G147A, V154A, R179A, T180G, T181I, D183A, D183G, D184A, D184A, D184F, L185V, L185D, S186A, S186F, G187A, G187T, R188A, R188L, S189A, D198A, R204A, R205A, C242S, S247I, Y247A, R248A, R250A, R251A, o D264A, G264A, T286A y/o T286I para crear polipéptidos efectores de toxina Shiga desinmunizados.

[0452] Cualquiera de las subregiones polipeptídicas efectoras de la toxina Shiga desinmunizadas y/o mutaciones disruptivas de epítomos descritas en el presente documento se pueden usar solas o en combinación con cada realización individual descrita en el presente documento, incluidos los métodos de la presente divulgación .

2. Polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga resistentes a la escisión por proteasa

[0453] El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 comprende (1) una región derivada del fragmento A1 de la toxina Shiga que tiene un extremo carboxi y (2) un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi de la región del fragmento A1 de la toxina Shiga. Mejorar la estabilidad de las conexiones entre el componente de la toxina Shiga y otros componentes de las moléculas que reconocen las células, por ejemplo, regiones de unión que reconocen las células, puede mejorar sus perfiles de toxicidad después de la administración a organismos al reducir las toxicidades no específicas causadas por la ruptura de la conexión y pérdida de orientación celular, tal como, por ejemplo, como resultado de proteólisis.

[0454] Las subunidades A de la toxina Shiga de miembros de la familia de las toxinas Shiga comprenden un sitio de escisión por furina conservado en el extremo carboxilo de sus regiones del fragmento A1 importantes para la función de la toxina Shiga. El experto puede identificar los motivos del sitio de escisión por furina y los sitios de escisión por furina usando técnicas estándar y/o usando la información aquí contenida.

[0455] El modelo de citotoxicidad de la toxina Shiga es que el procesamiento proteolítico intracelular de las subunidades A de la toxina Shiga por furina en células intoxicadas es esencial para 1) la liberación del fragmento A1 del resto de la holotoxina Shiga, 2) el escape del fragmento A1 de el retículo endoplásmico exponiendo un dominio hidrófobo en el extremo carboxilo del fragmento A1, y 3) activación enzimática del fragmento A1 (véase Johannes L, Römer W, Nat Rev Microbiol 8: 105-16 (2010)). La liberación eficiente del fragmento A1 de la toxina Shiga del fragmento A2 y del resto de componentes de la holotoxina Shiga en el retículo endoplásmico de las células intoxicadas es esencial para un encaminamiento intracelular eficiente al citosol, una actividad enzimática máxima, una inactivación eficiente de los ribosomas y lograr citotoxicidad óptima, es decir, comparable a una toxina Shiga de tipo salvaje (véase, por ejemplo, el documento WO 2015/191764 y las referencias en el mismo).

[0456] Durante la intoxicación por toxina Shiga, la subunidad A se escinde proteolíticamente mediante furina en el enlace carboxi de un residuo de arginina conservado (por ejemplo, el residuo de arginina en la posición 251 en las variantes StxA y SLT-1A y el residuo de arginina en la posición 250 en Stx2A y variantes SLT-2A). La escisión por furina de las subunidades A de la toxina Shiga se produce en los compartimentos endosómico y/o de Golgi. La furina es una serina endoproteasa especializada que se expresa en una amplia variedad de tipos de células, en todos los tejidos humanos examinados, y en la mayoría de las células animales. La furina escinde polipéptidos que comprenden motivos accesibles, a menudo centrados en el motivo de consenso mínimo, dibásico, Rx-(R/K/x)-R. Las subunidades A de miembros de la familia de toxinas Shiga comprenden una estructura de bucle extendida, expuesta en superficie y conservada (por ejemplo, 242-261 en StxA y SLT-1A, y 241-260 en SLT-2) con un motivo SR/YxxR conservado que está escindido por furina. La estructura de bucle extendida expuesta en la superficie incluida en los residuos de aminoácidos 242-261 en StxA es necesaria para la escisión por StxA inducida por furina, incluidas las características que flanquean el motivo mínimo de escisión por furina RxxR.

[0457] Los motivos de escisión por furina y los sitios de escisión por furina en las subunidades A de la toxina Shiga y los polipéptidos efectores de la toxina Shiga pueden ser identificados por el experto usando métodos estándar y/o usando la información del presente documento. Furin escinde el motivo de consenso mínimo RxxR (Schalken J et al., J Clin Invest 80: 1545-9 (1987); Bresnahan P et al., J Cell Biol 111: 2851-9 (1990); Hatsuzawa K et al., J Biol Chem 265: 22075-8 (1990); Wise R et al., Proc Natl Acad Sci USA 87: 9378-82 (1990); Molloy S et al., J Biol Chem 267: 16396-402 (1992)). De acuerdo con esto, muchos inhibidores de furina comprenden péptidos que comprenden el motivo RxxR. Un ejemplo de un inhibidor sintético de furina es una molécula que comprende el péptido RVKR (Henrich S et al., Nat Struct Biol 10: 520-6 (2003)). En general, se puede predecir que un péptido o proteína que comprende un motivo de aminoácido dibásico accesible a la superficie con dos aminoácidos cargados positivamente separados por dos residuos de aminoácidos será sensible a la escisión por furina, ocurriendo la escisión en el enlace carboxi del último enlace básico. aminoácido en el motivo.

[0458] Se han identificado motivos de consenso en sustratos escindidos por furina con cierto grado de especificidad. Se ha descrito un motivo del sitio de escisión por furina que comprende una región de veinte residuos de aminoácidos continuos, que pueden marcarse de P14 a P6' (Tian S et al., Int J Mol Sci 12: 1060-5 (2011)). utilizando la nomenclatura descrita en Schechter I, Berger, A, Biochem Biophys Res Commun 32: 898-902 (1968). Según esta nomenclatura, el sitio de escisión por furina está en el enlace carboxi del residuo de aminoácido denominado P1, y los residuos de aminoácidos del motivo de escisión por furina están numerados como P2, P3, P4, etc., en la dirección que va hacia el extremo amino de este residuo P1 de referencia. Los residuos de aminoácidos del motivo que van hacia el extremo carboxi del residuo de referencia P1 se numeran con la notación prima P2', P3', P4', etc. Usando esta nomenclatura, la región de P6 a P2' delinea el sustrato central de el motivo de escisión por furina que está unido por el dominio enzimático de furina. Las dos regiones flanqueantes, P14 a P7 y P3' a P6', suelen ser ricas en residuos de aminoácidos polares para aumentar la accesibilidad al sitio de escisión central de furina ubicado entre ellas.

[0459] Un sitio general de escisión por furina a menudo se describe mediante el motivo de consenso RxxR que corresponde a P4-P3-P2-P1; donde "R" representa un residuo de arginina (ver Tabla A, supra), un guión "-" representa un enlace peptídico y una "x" minúscula representa cualquier residuo de aminoácido. Sin embargo, otros residuos y

posiciones pueden ayudar a definir mejor los motivos de escisión por furina. Un sitio de escisión por furina ligeramente más refinado, el motivo de consenso a menudo se informa como el motivo de consenso Rx-[K/R]-R (donde una barra diagonal "/" significa "o" y divide residuos de aminoácidos alternativos en la misma posición), que corresponde a P4-P3-P2-P1, porque se observó que la furina tiene una fuerte preferencia por escindir sustratos que contienen este motivo.

[0460] Además del sitio de escisión por furina mínimo RxxR, se ha descrito un motivo de escisión por furina más grande con ciertas preferencias de residuos de aminoácidos en ciertas posiciones. Al comparar varios sustratos de furina conocidos, se han caracterizado ciertas propiedades fisicoquímicas de los residuos de aminoácidos en un motivo del sitio de escisión por furina de 20 residuos de aminoácidos de longitud. La región P6 a P2' del motivo de escisión por furina delinea el sitio central de escisión por furina que interactúa físicamente con el dominio enzimático de furina. Las dos regiones flanqueantes, P14 a P7 y P3' a P6', a menudo son hidrófilas y son ricas en residuos de aminoácidos polares para aumentar la accesibilidad a la superficie del sitio central de escisión por furina ubicado entre ellas.

[0461] En general, la región del motivo de escisión por furina desde la posición P5 a P1 tiende a comprender residuos de aminoácidos con una carga positiva y/o puntos isoeléctricos altos. En particular, la posición P1, que marca la posición de la proteólisis de furina, generalmente está ocupada por una arginina, pero en esta posición pueden aparecer otros residuos de aminoácidos cargados positivamente. Las posiciones P2 y P3 tienden a estar ocupadas por residuos de aminoácidos flexibles y, en particular, P2 tiende a estar ocupada por arginina, lisina o, a veces, por residuos de aminoácidos muy pequeños y flexibles como la glicina. La posición P4 tiende a estar ocupada por residuos de aminoácidos cargados positivamente en sustratos de furina. Sin embargo, si la posición P4 está ocupada por un residuo de aminoácido alifático, entonces la falta de un grupo funcional cargado positivamente puede compensarse con un residuo cargado positivamente ubicado en la(s) posición(es) P5 y/o P6. Las posiciones P1' y P2' están habitualmente ocupadas por residuos de aminoácidos alifáticos y/o hidrófobos, estando la posición P1' ocupada más comúnmente por una serina.

[0462] Las dos regiones flanqueantes hidrófilas tienden a estar ocupadas por residuos de aminoácidos que son polares, hidrófilos y tienen grupos funcionales de aminoácidos más pequeños; sin embargo, en ciertos sustratos de furina verificados, las regiones flanqueantes no contienen ningún residuo de aminoácido hidrófilo (véase Tian S, *Biochem Insights* 2: 9-20 (2009)).

[0463] El motivo de escisión por furina y el sitio de escisión por furina de veinte residuos de aminoácidos que se encuentran en las subunidades A de la toxina Shiga nativas en la unión entre el fragmento A1 de la toxina Shiga y el fragmento A2 están bien caracterizados en ciertas toxinas Shiga. Por ejemplo, en StxA (SEQ ID NO: 2) y SLT-1A (SEQ ID NO: 1), este motivo de escisión por furina está ubicado de forma nativa desde L238 a F257, y en SLT-2A (SEQ ID NO: 3), este El motivo de escisión por furina está ubicado de forma nativa desde V237 a Q256. Basándose en la homología de aminoácidos, experimentos y/o ensayos de escisión por furina descritos en el presente documento, el experto puede identificar motivos de escisión por furina en otros polipéptidos nativos, subunidades A de la toxina Shiga o polipéptidos efectores de la toxina Shiga, donde los motivos son motivos de escisión por furina reales. o se predice que darán como resultado la producción de fragmentos A1 y A2 después de la escisión con furina de esas moléculas dentro de una célula eucariota.

[0464] El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención como se define en las reivindicaciones comprende (1) un polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga que tiene un extremo carboxi y (2) un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi del polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga. El extremo carboxi de un polipéptido derivado de un fragmento de toxina Shiga A1 puede ser identificado por el experto usando técnicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, usando software de alineación de secuencias de proteínas para identificar (i) un motivo de escisión por furina conservado con una toxina Shiga de origen natural, (ii) un bucle extendido y expuesto en la superficie conservado con una toxina Shiga de origen natural, y/o (iii) un tramo de residuos de aminoácidos que son predominantemente hidrofóbicos (es decir, un "parche" hidrofóbico que puede ser reconocido por el sistema ERAD).

[0465] Un polipéptido efector de toxina Shiga (1) resistente a la escisión por proteasas puede carecer completamente de cualquier motivo de escisión por furina en un extremo carboxilo de su región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o (2) comprende un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi de su región del fragmento A1 de toxina Shiga y/o región derivada del extremo carboxi de un fragmento A1 de toxina Shiga. Una alteración de un motivo de escisión por furina incluye diversas alteraciones de un residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina, tales como, por ejemplo, una modificación postraduccional, una alteración de uno o más átomos en un grupo funcional de aminoácido., la adición de uno o más átomos a un grupo funcional de aminoácido, la asociación a uno o más restos no proteicos y/o el enlace a un residuo de aminoácido, péptido o polipéptido tal como dando como resultado una estructura proteica ramificada.

[0466] Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga resistentes a la escisión por proteasa se pueden crear a partir de un polipéptido efector de la toxina Shiga y/o un polipéptido de la subunidad A de la toxina Shiga, ya sea de origen natural o no, usando un método descrito en el presente documento, descrito en los documentos WO 2015/191764 y

WO 2015/191764. 2016/196344, y/o conocido por el experto, en el que la molécula resultante aún conserva una o más funciones de la subunidad A de la toxina Shiga.

[0467] Para los fines de la presente divulgación con respecto a un sitio de escisión por furina o motivo de escisión por furina, el término "interrupción" o "interrumpido" se refiere a una alteración del sitio de escisión por furina y/o del sitio de escisión por furina que se produce de forma natural. motivo, tal como, por ejemplo, una mutación, que da como resultado una reducción en la escisión por furina proximal al extremo carboxi de una región del fragmento A1 de la toxina Shiga, o región identificable derivada de la misma, en comparación con la escisión por furina de una región salvaje. Subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje o un polipéptido derivado de una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje que comprende sólo secuencias de polipéptidos de tipo salvaje. Una alteración de un residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina incluye una mutación en el motivo de escisión por furina, tal como, por ejemplo, una deleción, inserción, inversión, sustitución y/o truncamiento carboxi-terminal del motivo de escisión por furina., así como una modificación postraducciona, tal como, por ejemplo, como resultado de glicosilación, albuminación y similares que implican conjugar o unir una molécula al grupo funcional de un residuo de aminoácido. Debido a que el motivo de escisión por furina está compuesto por aproximadamente veinte residuos de aminoácidos, en teoría, las alteraciones, modificaciones, mutaciones, deleciones, inserciones y/o truncamientos que involucran uno o más residuos de aminoácidos de cualquiera de estas veinte posiciones podrían dar como resultado una reducción de la sensibilidad a la escisión por furina (Tian S et al., Sci Rep 2: 261 (2012)). La alteración de un sitio de escisión por furina y/o motivo de escisión por furina puede o no aumentar la resistencia a la escisión por otras proteasas, tales como, por ejemplo, tripsina y proteasas extracelulares comunes en el sistema vascular de los mamíferos. Los efectos de una alteración determinada de la sensibilidad de escisión por una proteasa determinada pueden ser probados por el experto utilizando técnicas conocidas en la técnica.

[0468] Para los fines de la presente divulgación, un "motivo de escisión por furina alterado" es un motivo de escisión por furina que comprende una alteración de uno o más residuos de aminoácidos derivados de la región de 20 residuos de aminoácidos que representa un motivo de escisión por furina conservado encontrado en nativo, subunidades A de toxina Shiga en la unión entre las regiones del fragmento A1 de toxina Shiga y del fragmento A2 y posicionadas de manera que la escisión con furina de una subunidad A de toxina Shiga da como resultado la producción de los fragmentos A1 y A2; en el que el motivo de escisión por furina interrumpido exhibe una escisión por furina reducida de una manera experimentalmente reproducible en comparación con una molécula de referencia que comprende una región de fragmento de toxina A1 de Shiga de tipo salvaje fusionada a un polipéptido carboxi-terminal de un tamaño lo suficientemente grande como para monitorear la escisión por furina usando el ensayo apropiado conocido por el experto y/o descrito en el presente documento.

[0469] Ejemplos de tipos de mutaciones que pueden alterar un sitio de escisión por furina y un motivo de escisión por furina son eliminaciones, inserciones, truncamientos, inversiones y/o sustituciones de residuos de aminoácidos, incluidas sustituciones con aminoácidos no estándar y/o no -aminoácidos naturales. Además, los sitios de escisión por furina y los motivos de escisión por furina pueden alterarse mediante mutaciones que comprenden la modificación de un aminoácido mediante la adición de una estructura unida covalentemente que enmascara al menos un aminoácido en el sitio o motivo, tal como, por ejemplo, como resultado de la PEGilación, el acoplamiento de adyuvantes de moléculas pequeñas y/o albuminación específica de sitio.

[0470] Si un motivo de escisión por furina se ha interrumpido por mutación y/o la presencia de residuos de aminoácidos no naturales, ciertos motivos de escisión por furina interrumpidos pueden no ser fácilmente reconocibles como relacionados con cualquier motivo de escisión por furina; sin embargo, el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1 de la toxina Shiga será reconocible y definirá dónde se ubicaría el motivo de escisión por furina si no se alterara. Por ejemplo, un motivo de escisión por furina interrumpido puede comprender menos de los veinte residuos de aminoácidos del motivo de escisión por furina debido a un truncamiento del terminal carboxi en comparación con una subunidad A de la toxina Shiga y/o un fragmento A1 de la toxina Shiga.

[0471] En ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende (1) un polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga que tiene un extremo carboxi y (2) un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo extremo carboxi de la región polipeptídica del fragmento A1 de la toxina Shiga; en el que el polipéptido efector de la toxina Shiga (y cualquier molécula de reconocimiento de células que lo comprenda) es más resistente a la escisión con furina en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, un polipéptido de toxina Shiga de tipo salvaje que comprende el extremo carboxi de un fragmento A1. y/o el motivo de escisión por furina conservado entre los fragmentos A1 y A2. Por ejemplo, se puede determinar una reducción en la escisión por furina de una molécula en comparación con una molécula de referencia usando un ensayo de escisión por furina in vitro descrito en los ejemplos siguientes, realizado usando las mismas condiciones, y a continuación realizando una cuantificación de la densidad de banda de cualquier fragmento resultante de la escisión para medir cuantitativamente el cambio en la escisión por furina.

[0472] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga es más resistente a la escisión con furina in vitro y/o in vivo en comparación con una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje.

[0473] En general, la sensibilidad a la escisión por proteasa de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención se prueba comparándola con la misma molécula que tiene su polipéptido efector de la toxina Shiga resistente a la escisión por furina reemplazado por una toxina Shiga de tipo salvaje. polipéptido efector que comprende un fragmento A1 de la toxina Shiga. En ciertas realizaciones, las moléculas de la presente invención que comprenden un motivo de escisión por furina interrumpido exhiben una reducción en la escisión por furina in vitro del 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o más en comparación con una molécula de referencia que comprende un fragmento de toxina A1 Shiga de tipo salvaje fusionado en su extremo carboxilo a un péptido o polipéptido, tal como, por ejemplo, la molécula de referencia SLT-1A-WT::scFv1 ::C2 (SEQ ID NO: 278) descrito en los Ejemplos siguientes.

[0474] Se han descrito varias alteraciones del motivo de escisión por furina . Por ejemplo, la mutación de las dos argininas conservadas a alaninas en el motivo RxxR mínimo bloqueó completamente el procesamiento mediante furina y/o proteasas similares a furina (véase, por ejemplo, Duda A et al., J Virology 78: 13865-70 (2004)). Debido a que el motivo del sitio de escisión por furina está compuesto por aproximadamente veinte residuos de aminoácidos, en teoría, ciertas mutaciones que involucran uno o más de cualquiera de estos veinte, las posiciones de los residuos de aminoácidos podrían abolir la escisión por furina o reducir la eficiencia de la escisión por furina (ver, por ejemplo, Tian S et al., Sci Rep 2: 261 (2012)).

[0475] Las moléculas de la presente invención definidas en las reivindicaciones comprenden un polipéptido efector de la toxina Shiga derivado de al menos una subunidad A de un miembro de la familia de la toxina Shiga en donde el polipéptido efector de la toxina Shiga comprende una alteración en uno o más aminoácidos derivados del bucle conservado, altamente accesible y sensible a la escisión por proteasas de las subunidades A de la toxina Shiga. Por ejemplo, en StxA y SLT-1A, este bucle altamente accesible y sensible a proteasas está ubicado de forma nativa entre los residuos de aminoácidos 242 a 261, y en SLT-2A, este bucle conservado está ubicado de manera nativa entre los residuos de aminoácidos 241 a 260. basándose en la homología de secuencia polipeptídica, el experto puede identificar esta estructura de bucle conservada y altamente accesible en otras subunidades A de la toxina Shiga. Ciertas mutaciones en los residuos de aminoácidos en este bucle pueden reducir la accesibilidad de ciertos residuos de aminoácidos dentro del bucle a la escisión proteolítica y esto podría reducir la sensibilidad a la escisión por furina.

[0476] La molécula de la presente invención definida en las reivindicaciones comprende un polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina interrumpido que comprende una mutación en el bucle sensible a la proteasa, expuesto en la superficie, conservado entre las subunidades A de la toxina Shiga. La molécula de la presente invención definida en las reivindicaciones comprende un polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina interrumpido que comprende una mutación en este bucle sensible a proteasa de las subunidades A de la toxina Shiga, la mutación que reduce la accesibilidad a la superficie de ciertos residuos de aminoácidos. dentro del bucle de modo que se reduzca la sensibilidad a la escisión por furina.

[0477] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido de un polipéptido efector de toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una alteración en términos de existencia, posición, o grupo funcional de uno o ambos residuos de aminoácidos de consenso P1 y P4, tales como, por ejemplo, los residuos de aminoácidos en las posiciones 1 y 4 del motivo mínimo de escisión por furina R/YxxR. Por ejemplo, mutar uno o ambos de los dos residuos de arginina en el sitio consenso mínimo de furina RxxR a alanina alterará un motivo de escisión por furina y evitará la escisión por furina en ese sitio. De manera similar, las sustituciones de residuos de aminoácidos de uno o ambos residuos de arginina en el motivo mínimo de escisión por furina RxxR por cualquier residuo de aminoácido no conservador conocido por el experto reducirán la sensibilidad del motivo a la escisión por furina. En particular, las sustituciones de residuos de aminoácidos de arginina por cualquier residuo de aminoácido no básico que carezca de carga positiva, tales como, por ejemplo, A, G, P, S, T, D, E, Q, N, C, I, L, M, V, F, W e Y darán como resultado un motivo de escisión por furina interrumpido.

[0478] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido de un polipéptido efector de toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una interrupción en el espaciado entre el amino consenso los residuos ácidos P4 y P1 en términos del número de residuos de aminoácidos intervinientes son distintos de dos y, por lo tanto, cambian P4 y/o P1 a una posición diferente y eliminan las designaciones P4 y/o P1. Por ejemplo, las eliminaciones dentro del motivo de escisión por furina del sitio mínimo de escisión por furina o del motivo central de escisión por furina reducirán la sensibilidad a la escisión por furina del motivo de escisión por furina.

[0479] El motivo de escisión por furina interrumpido del polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una o más sustituciones de residuos de aminoácidos, en comparación con una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje. El motivo de escisión por furina interrumpido comprende una o más sustituciones de residuos de aminoácidos dentro del sitio de escisión por furina mínimo R/YxxR. El residuo de aminoácido R248 situado de forma nativa está sustituido con un residuo de aminoácido no cargado positivamente y R251 está sustituido con un residuo de aminoácido no cargado positivamente.

[0480] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende un sitio de escisión por furina mínimo R/YxxR, no interrumpido, pero en su lugar comprende una región flanqueante interrumpida, tal como, por ejemplo, sustituciones de residuos de aminoácidos en uno o más residuos de aminoácidos en las regiones flanqueantes del motivo de escisión por furina en posición nativa, por ejemplo, 241-247 y/o 252-259. En ciertas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una sustitución de uno o más de los residuos de aminoácidos ubicados en la región P1-P6 del motivo de escisión por furina; mutar P1' a un aminoácido voluminoso, tal como, por ejemplo, R, W, Y, F y H; y mutar P2' a un resto de aminoácido polar e hidrófilo; y sustituir uno o más de los residuos de aminoácidos ubicados en la región P1'-P6' del motivo de escisión por furina con uno o más residuos de aminoácidos voluminosos e hidrófobos.

[0481] En ciertas realizaciones, la alteración del motivo de escisión por furina divulgado en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una eliminación, inserción, inversión y/o mutación de al menos un residuo de aminoácido dentro del motivo de escisión por furina. motivo de escote. En determinadas realizaciones, un polipéptido efector de la toxina Shiga resistente a la escisión por proteasa comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede comprender una alteración de la secuencia de aminoácidos situada de forma nativa en 248-251 de la subunidad A de la toxina Shiga (SEQ ID NO: 1-2 y 4-6), en 247-250 de la subunidad A de la toxina tipo Shiga 2 (SEQ ID NO: 3 y 7-18), o en la posición equivalente en un polipéptido efector de toxina Shiga conservado y /o secuencia del polipéptido efector de la toxina Shiga no nativa. En ciertas realizaciones adicionales descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), los polipéptidos efectores de la toxina Shiga resistentes a la escisión por proteasas comprenden una alteración que comprende una eliminación de al menos un aminoácido dentro del motivo de escisión por furina. En ciertas realizaciones adicionales descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), los polipéptidos efectores de la toxina Shiga resistentes a la escisión por proteasas comprenden una alteración que comprende una inserción de al menos un aminoácido dentro de la región del motivo de escisión por proteasa. En ciertas realizaciones adicionales descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), los polipéptidos efectores de la toxina Shiga resistentes a la escisión por proteasa comprenden una alteración que comprende una inversión de aminoácidos, en la que al menos un aminoácido invertido está dentro del motivo de proteasa. región. En ciertas realizaciones adicionales descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), los polipéptidos efectores de la toxina Shiga resistentes a la escisión por proteasa comprenden una alteración que comprende una mutación, tal como una sustitución de un aminoácido por un aminoácido no estándar o un Aminoácido con una cadena lateral modificada químicamente. En los ejemplos siguientes se proporcionan ejemplos de sustituciones de aminoácidos individuales.

[0482] En ciertas realizaciones de las moléculas de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende la eliminación de nueve, diez, once o más de los residuos de aminoácidos carboxi-terminales. dentro del motivo de escisión por furin. En estas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido no comprenderá un sitio de escisión por furina o un motivo de escisión por furina mínimo. En otras palabras, ciertas realizaciones carecen de un sitio de escisión por furina en el extremo carboxi de la región del fragmento A1.

[0483] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende tanto una eliminación de residuos de aminoácidos como una sustitución de residuos de aminoácidos en comparación con una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje. . En ciertas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una o más eliminaciones y sustituciones de residuos de aminoácidos dentro del sitio de escisión por furina mínimo R/YxxR, tal como, por ejemplo, para polipéptidos efectores de toxina Shiga derivados de StxA y SLT-1A, el residuo de aminoácido posicionado de forma nativa R248 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente y/o R251 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente; y para los polipéptidos efectores de la toxina Shiga derivados de SLT-2A, el residuo de aminoácido Y247 colocado de forma nativa sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente y/o R250 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente.

[0484] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una eliminación de residuos de aminoácidos y una sustitución de residuos de aminoácidos, así como un truncamiento del terminal carboxi en comparación con un motivo salvaje. -tipo, subunidad A de la toxina Shiga. En ciertas realizaciones adicionales descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una o más eliminaciones y sustituciones de residuos de aminoácidos dentro del sitio de escisión mínimo de furina R/YxxR, tal como, por ejemplo, para Polipéptidos efectores de toxina Shiga derivados de StxA y SLT-1A, el residuo de aminoácido R248 posicionado de forma nativa sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente y/o R251 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente; y para los polipéptidos efectores de la toxina Shiga derivados de SLT-2A, el residuo de aminoácido Y247 colocado de forma nativa sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente y/o R250 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente.

[0485] En ciertas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende tanto una sustitución de aminoácidos dentro del sitio de escisión por furina mínimo R/YxxR como un truncamiento carboxi-terminal en comparación a una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje, tal como, por ejemplo, para los polipéptidos efectores de la toxina Shiga derivados de StxA y SLT-1A, truncamientos que terminan en la posición nativa del aminoácido 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, o mayor y que comprende el residuo de aminoácido posicionado de forma nativa R248 y/o R251 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente, cuando corresponda; y para los polipéptidos efectores de la toxina Shiga derivados de SLT-2A, truncamientos que terminan en la posición nativa del aminoácido 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263., 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 2 88, 289, 290, 291 o mayor y que comprende el residuo de aminoácido posicionado de forma nativa Y247 y/o R250 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente, cuando corresponda.

[0486] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una inserción de uno o más residuos de aminoácidos en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, siempre que el residuo amino incluido no crea un sitio de escisión por novo de furina. En ciertas realizaciones, la inserción de uno o más residuos de aminoácidos altera el espaciado natural entre los residuos de arginina en el sitio mínimo de escisión por furina R/YxxR, tal como, por ejemplo, polipéptidos derivados de StxA y SLT-1A que comprenden una inserción de uno o más residuos de aminoácidos en 249 o 250 y por tanto entre R248 y R251; o polipéptidos derivados de SLT-2A que comprenden una inserción de uno o más residuos de aminoácidos en 248 o 249 y, por tanto, entre Y247 y R250.

[0487] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende tanto una inserción de residuo de aminoácido como un truncamiento carboxi-terminal en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. . En determinadas realizaciones descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende tanto una inserción de residuos de aminoácidos como una sustitución de residuos de aminoácidos en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas realizaciones descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende tanto una inserción de residuos de aminoácidos como una eliminación de residuos de aminoácidos en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje.

[0488] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una eliminación de residuos de aminoácidos, una inserción de residuos de aminoácidos y una sustitución de residuos de aminoácidos en comparación con un motivo salvaje. tipo, subunidad A de la toxina Shiga.

[0489] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido descrito en el presente documento (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una eliminación, inserción, sustitución y truncamiento del residuo de aminoácido en comparación con un Shiga de tipo salvaje. Subunidad A de la toxina.

[0490] En ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende un motivo de escisión por furina interrumpido se fusiona directamente mediante un enlace peptídico a un resto molecular que comprende un aminoácido, péptido y/o polipéptido en el que la estructura fusionada implica una única y continua polipéptido. En estas realizaciones de fusión, la secuencia de aminoácidos que sigue al motivo de escisión por furina interrumpido no debe crear un sitio de escisión por furina de novo en la unión de fusión.

[0491] Cualquiera de los motivos de escisión por furina interrumpidos por el polipéptido efector de la toxina Shiga resistente a la escisión por proteasas anteriores se puede usar solo o en combinación con cada realización individual descrita en el presente documento, incluidos los métodos de la presente divulgación .

3. Polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga hiperinmunizados de células T

[0492] El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, comprende un epítipo de células T CD8+ heterólogo incluido que se considera heterólogo de la toxina Shiga. Subunidades A. En ciertas realizaciones adicionales, el péptido-epítipo de células T CD8+ tiene una afinidad de unión a una molécula de MHC de clase I caracterizada por una constante de disociación (K_D) de 10^{-4} molar o menos y/o el epítipo de clase I de MHC resultante- El complejo peptídico tiene una afinidad de unión a un receptor de células T (TCR) caracterizado por una constante de disociación (K_D) de 10^{-4} molar o menos.

[0493] En determinadas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada)

comprende un epítipo de células T CD8+ humanas heterólogas, incluidas o incluidas. El epítipo de células T heterólogo se incrusta o inserta para alterar un epítipo endógeno o una región de epítipo (por ejemplo, un epítipo de células B y/o un epítipo de células T CD4+) identificable en un polipéptido de toxina Shiga de origen natural o efector de toxina Shiga parental. polipéptido del que se deriva el polipéptido efector de la toxina Shiga de la presente invención.

5 [0494] El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es una célula T CD8+ hiperinmunizada, tal como, por ejemplo, en comparación con un polipéptido de la toxina Shiga de tipo salvaje. Los polipéptidos efectores de toxina Shiga hiperinmunizados de células T CD8+ comprenden cada uno un péptido-epítipo de células T. Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga hiperinmunizados se pueden crear a partir de polipéptidos efectores de la toxina Shiga y/o polipéptidos de la subunidad A de la toxina Shiga, ya sean de origen natural o no, usando un método descrito en el presente documento, descrito en el documento WO 2015/113007, y/o conocido por el trabajador experto, en el que la molécula resultante aún conserva una o más funciones de la Subunidad A de la toxina Shiga.

15 [0495] Para los fines de la presente divulgación, un epítipo de células T es una estructura molecular que está compuesta por un péptido antigénico y puede representarse mediante una secuencia lineal de aminoácidos. Comúnmente, los epítipos de células T son péptidos de tamaños de ocho a once residuos de aminoácidos (Townsend A, Bodmer H, Annu Rev Immunol 7: 601-24 (1989)); sin embargo, ciertos péptidos-epítipos de células T tienen longitudes menores que ocho o mayores que once aminoácidos (ver, por ejemplo, Livingstone A, Fathman C, Annu Rev Immunol 5: 477-501 (1987); Green K et al., Eur J Immunol 34: 2510-9 (2004)). En ciertas realizaciones de la divulgación, el epítipo incluido o incluido tiene al menos siete residuos de aminoácidos de longitud. En ciertas realizaciones de la divulgación, el epítipo incluido o incluido está unido por un TCR con una afinidad de unión caracterizada por una KD inferior a 10 mM (por ejemplo, 1-100 μ M) según se calcula usando la fórmula en Stone J et al., Immunology 126: 165-76 (2009). Sin embargo, cabe señalar que la afinidad de unión dentro de un intervalo dado entre el epítipo del MHC y el TCR puede no correlacionarse con la antigenicidad y/o la inmunogenicidad (véase, por ejemplo, Al-Ramadi B et al., J Immunol 155: 662-73 (1995).)), tal como debido a factores como la estabilidad del complejo MHC-péptido-TCR, la densidad de MHC-péptido y las funciones independientes de MHC de los cofactores de TCR tales como CD8 (Valitutti S et al., J Exp Med 183: 1917-21 (1996); Baker B et al., Immunity 13: 475-84 (2000); Hornell T et al., J Immunol 170: 4506-14 (2003); Faroudi M et al., Proc Natl Acad Sci USA 100: 14145-50 (2003); Woolridge L et al., J Immunol 171: 6650-60 (2003); Purbhoo M et al., Nat Immunol 5: 524-30 (2004)).

[0496] Un epítipo de células T heterólogo es un epítipo que aún no está presente en una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje; una subunidad A de la toxina Shiga de origen natural; y/o un polipéptido efector de toxina Shiga parental usado como polipéptido fuente para la modificación mediante un método descrito en el presente documento, descrito en los documentos WO 2015/113007 y/o WO 2016/196344, y/o conocido por el experto.

[0497] Un péptido-epítipo de células T heterólogo puede incorporarse en un polipéptido fuente mediante numerosos métodos conocidos por el experto, incluyendo, por ejemplo, los procesos de creación de una o más sustituciones de aminoácidos dentro del polipéptido fuente, fusionando uno o más sustituciones de aminoácidos dentro del polipéptido fuente. más aminoácidos al polipéptido fuente, insertar uno o más aminoácidos en el polipéptido fuente, unir un péptido al polipéptido fuente y/o una combinación de los procesos antes mencionados. El resultado de tal método es la creación de una variante modificada del polipéptido fuente que comprende uno o más epítipos-péptidos de células T heterólogos, embebidos o incluidos.

45 [0498] Los epítipos de células T pueden elegirse o derivarse de varias moléculas fuente. Los epítipos de células T pueden crearse o derivarse de diversas proteínas naturales. Los epítipos de células T pueden crearse o derivarse de diversas proteínas naturales extrañas a los mamíferos, tales como, por ejemplo, proteínas de microorganismos. Los epítipos de células T pueden crearse o derivarse de proteínas humanas mutadas y/o proteínas humanas expresadas de forma aberrante por células humanas malignas. Los epítipos de células T pueden crearse sintéticamente o derivarse de moléculas sintéticas (véase, por ejemplo, Carbone F et al., J Exp Med 167: 1767-9 (1988); Del Val M et al., J Virol 65: 3641-6 (1991); Appella E et al., Biomed Pept Proteins Nucleic Acids 1: 177-84 (1995); Perez S et al., Cancer 116: 2071-80 (2010)).

55 [0499] Aunque se contempla el uso de cualquier péptido-epítipo de células T CD8+ como un epítipo de células T heterólogo de la presente divulgación (y no como parte de la presente invención reivindicada), se pueden seleccionar ciertos epítipos basándose en propiedades deseables. Un objetivo de la presente invención es crear polipéptidos efectores de toxina Shiga hiperinmunizados de células T CD8+ para su administración a vertebrados, lo que significa que el epítipo heterólogo de células T es altamente inmunogénico y puede provocar respuestas inmunes robustas in vivo cuando se presenta en forma de complejo con una molécula de MHC de clase I en la superficie de una célula. El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende un epítipo de células T heterólogo incluido que es un epítipo de células T CD8+. Un polipéptido efector de toxina Shiga de la presente invención que comprende un epítipo heterólogo de células T CD8+ se considera un polipéptido efector de toxina Shiga hiperinmunizado de células T CD8+.

65 [0500] Los componentes del epítipo de células T se pueden elegir o derivar de varias moléculas fuente que ya se sabe que son capaces de provocar una respuesta inmune en vertebrados. Los epítipos de células T pueden derivarse

de diversas proteínas naturales extrañas a los vertebrados, tales como, por ejemplo, proteínas de microorganismos patógenos y antígenos cancerosos no propios. En particular, los microorganismos infecciosos pueden contener numerosas proteínas con propiedades antigénicas y/o inmunogénicas conocidas. Además, los microorganismos infecciosos pueden contener numerosas proteínas con subregiones o epítomos antigénicos y/o inmunogénicos conocidos.

[0501] Por ejemplo, las proteínas de patógenos intracelulares con huéspedes mamíferos son fuentes de epítomos de células T. Existen numerosos patógenos intracelulares, como virus, bacterias, hongos y eucariotas unicelulares, con proteínas o péptidos antigénicos bien estudiados. Los epítomos de células T pueden seleccionarse o identificarse a partir de virus humanos u otros patógenos intracelulares, tales como, por ejemplo, bacterias como micobacterias, hongos como toxoplasmas y protistas como tripanosomas.

[0502] Por ejemplo, hay muchos componentes peptídicos virales inmunogénicos de proteínas virales de virus que son infecciosos para los humanos. Se han asignado numerosos epítomos de células T humanas a péptidos dentro de proteínas de los virus de la influenza A, como los péptidos en las proteínas HA glicoproteínas FE17, S139/1, CH65, C05, hemaglutinina 1 (HA1), hemaglutinina 2 (HA2), no estructurales. proteína 1 y 2 (NS1 y NS 2), proteína de matriz 1 y 2 (M1 y M2), nucleoproteína (NP), neuraminidasa (NA)), y se ha demostrado que muchos de estos péptidos provocan respuestas inmunes humanas, como por usando ensayo ex vivo. De manera similar, se han asignado numerosos epítomos de células T humanas a componentes peptídicos de proteínas de citomegalovirus humanos (HCMV), como los péptidos en las proteínas pp65 (UL83), UL128-131, inmediata-temprana 1 (IE-1; UL123). Se ha demostrado que la glicoproteína B, las proteínas del tegumento y muchos de estos péptidos provocan respuestas inmunitarias humanas, por ejemplo mediante el uso de ensayos ex vivo.

[0503] Otro ejemplo es que hay muchos antígenos cancerosos inmunogénicos en humanos. Los epítomos de células T CD8+ de antígenos de células cancerosas y/o tumorales pueden ser identificados por el experto usando técnicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, genómica diferencial, proteómica diferencial, inmunoproteómica, predicción y a continuación validación, y enfoques genéticos como la inversa. -transfección genética (véase, por ejemplo, Admon A et al., *Mol Cell Proteomics* 2: 388-98 (2003); Purcell A, Gorman J, *Mol Cell Proteomics* 3: 193-208 (2004); Comber J, Philip R, *TherAdv Vacunas* 2: 77-89 (2014)). Hay muchos epítomos de células T antigénicos y/o inmunogénicos ya identificados o que se prevé que ocurrirán en células cancerosas y/o tumorales humanas. Por ejemplo, se han predicho epítomos de células T en proteínas humanas comúnmente mutadas o sobreexpresadas en células neoplásicas, tales como, por ejemplo, ALK, CEA, N-acetilglucosaminil-transferasa V (GnT-V), HCA587, HER-2/neu, MAGE, Melan-A/MART-1, MUC-1, p53 y TRAG-3 (véase, por ejemplo, van der Bruggen P et al., *Science* 254: 1643-7 (1991); Kawakami Yet al., *J Exp Med* 180: 347-52 (1994); Fisk B et al., *J Exp Med* 181: 2109-17 (1995); Guilloux Y et al., *J Exp Med* 183: 1173 (1996); Skipper Jet al., *J Exp Med* 183: 527 (1996); Brossart P et al., 93: 4309-17 (1999); Kawashima I et al., *Cancer Res* 59: 431-5 (1999); Papadopoulos K et al., *Clin Cancer Res* 5 : 2089-93 (1999); Zhu B et al., *Clin Cancer Res* 9: 1850-7 (2003); Li B et al., *Clin Exp Immunol* 140: 310-9 (2005); Ait-Tahar K et al. , *Int J Cancer* 118: 688-95 (2006); Akiyama Y et al., *Cancer Immunol Immunother* 61: 2311-9 (2012)). Además, se han creado variantes sintéticas de epítomos de células T procedentes de células cancerosas humanas (véase, por ejemplo, Lazoura E, Apostolopoulos V, *Curr Med Chem* 12: 629-39 (2005); Douat-Casassus C et al., *J Med Chem.* 50: 1598-609 (2007)).

[0504] Aunque se puede utilizar cualquier epítomo de células T CD8+ en las moléculas descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), se pueden preferir ciertos epítomos de células T CD8+ en función de sus características conocidas y/o determinadas empíricamente. Por ejemplo, en muchas especies, los alelos del MHC en su genoma codifican múltiples variantes moleculares del MHC-I. Debido a que los polimorfismos de la proteína MHC de clase I pueden afectar el reconocimiento del complejo antígeno-MHC de clase I por parte de las células T CD8+, los epítomos de células T pueden elegirse basándose en el conocimiento sobre ciertos polimorfismos de MHC de clase I y/o la capacidad de ciertos complejos de antígeno-MHC de clase I. ser reconocido por células T que tienen diferentes genotipos.

[0505] Hay epítomos peptídicos bien definidos que se sabe que son inmunogénicos, restringidos al MHC de clase I y/o coincidentes con una variante específica del antígeno leucocitario humano (HLA). Para aplicaciones en humanos o que involucran células diana humanas, el experto puede seleccionar o identificar epítomos restringidos por HLA de clase I usando técnicas estándar conocidas en la técnica. La capacidad de los péptidos para unirse a moléculas MHC de clase I humanas se puede utilizar para predecir el potencial inmunogénico de supuestos epítomos de células T. La capacidad de los péptidos para unirse a moléculas MHC de clase I humanas se puede evaluar utilizando herramientas de software. Los epítomos de células T CD8+ pueden elegirse para su uso como un componente heterólogo de epítomos de células T CD8+ de la presente invención basándose en la selectividad peptídica de las variantes de HLA codificadas por los alelos más prevalentes en ciertas poblaciones humanas. Por ejemplo, la población humana es polimórfica para la cadena alfa de las moléculas MHC de clase I debido a la variedad de alelos de los genes HLA de un individuo a otro. En ciertos linfocitos T, los epítomos pueden presentarse más eficientemente mediante una molécula de HLA específica, tal como, por ejemplo, las variantes de HLA que aparecen comúnmente codificadas por los grupos de alelos HLA-A HLA-A2 y HLA-A3.

[0506] Al elegir epítomos de células T CD8+ para su uso como un componente de epítomo de células T heterólogo de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada), se pueden considerar múltiples factores que pueden influir en la generación y el transporte de epítomos a receptores Moléculas de MHC de clase I, tales como, por ejemplo, la presencia y especificidad de epítomo de los siguientes factores en la célula diana: proteasoma, ERAAP/ERAP1, tapasina y TAP.

[0507] Al elegir epítomos de células T CD8+ para su uso como un componente de epítomo de células T heterólogo de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada), se puede seleccionar el epítomo que mejor coincida con las moléculas de MHC de clase I presentes en el tipo de célula o las poblaciones de células a las que se dirigirá. Diferentes moléculas de MHC de clase I exhiben unión preferencial a secuencias peptídicas particulares, y los complejos de variantes de péptido-MHC de clase I particulares son reconocidos específicamente por los receptores de células T (TCR) de las células T efectoras. El trabajador cualificado puede utilizar el conocimiento sobre las especificidades de las moléculas del MHC de clase I y las especificidades de los TCR para optimizar la selección de epítomos de células T CD8+ heterólogos.

[0508] Además, se pueden incrustar múltiples epítomos inmunogénicos de células T CD8+ para la presentación de MHC de clase I en el mismo polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada).), como, por ejemplo, para su uso en la administración dirigida de una pluralidad de epítomos de células T simultáneamente. Un ejemplo de una molécula de reconocimiento de células que comprende múltiples epítomos de células T CD8+ es la SEQ ID NO: 253.

4. Sitios de conjugación específicos de sitio en polipéptidos efectores de la toxina Shiga

[0509] Las moléculas de la presente invención pueden comprender un polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende un residuo de aminoácido único, tal como, por ejemplo, un residuo de cisteína, lisina, selenocisteína o pirrolina-carboxilisina, que puede estar de manera opcional unido, ya sea directa o indirectamente, a un agente o carga para administración dirigida, incluyendo, por ejemplo, un agente que altera la molécula de reconocimiento de células que confiere una propiedad deseable a una molécula de reconocimiento de células que comprende el polipéptido efector de la toxina Shiga tras la administración a un mamífero (ver, por ejemplo, WO 2018/106895). Las moléculas que comprenden tales polipéptidos efectores de la toxina Shiga pueden estar equipadas con una posición específica de sitio, tal como, por ejemplo, un residuo de aminoácido único en la molécula, para unir otras moléculas mientras se conserva la(s) función(es) de la toxina Shiga, tal como, por ejemplo, estimular internalización celular, dirección de enrutamiento intracelular eficiente y/o citotoxicidad potente. El polipéptido efector de la toxina Shiga se puede conjugar con otro resto, agente y/o carga, directa o indirectamente, a través del residuo de aminoácido único, tal como, por ejemplo, a través del grupo funcional del aminoácido único (ver, por ejemplo, WO 2018 /106895).

B. Cargas de péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogos para su suministro

[0510] La molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una o más cargas de epítomos de células T CD8+ que son heterólogas al respectivo polipéptido efector de toxina Shiga y región de unión, que no está incluida ni incluida dentro de un componente de polipéptido efector de toxina Shiga. y que está situado en el extremo carboxi del extremo carboxi de la región del fragmento A1 de la toxina Shiga, como se define en las reivindicaciones.

[0511] Para los fines de la presente invención reivindicada, un epítomo de células T CD8+ (también conocido como epítomo de MHC de clase I o péptido de MHC de clase I) es una estructura molecular que está compuesta por un péptido antigénico y puede representarse mediante una línea lineal, secuencia de aminoácidos. Comúnmente, los epítomos de células T CD8+ son péptidos de tamaños de ocho a once residuos de aminoácidos (Townsend A, Bodmer H, Annu Rev Immunol 7: 601-24 (1989)); sin embargo, ciertos epítomos de células T CD8+ tienen longitudes inferiores a ocho o superiores a once aminoácidos (véase, por ejemplo, Livingstone A, Fathman C, Annu Rev Immunol 5: 477-501 (1987); Green K et al., Eur. J Immunol 34: 2510-9 (2004)).

[0512] Un epítomo de células T CD8+ es una estructura molecular reconocible por un sistema inmunológico de al menos un individuo, es decir, un péptido antigénico. La carga heteróloga de epítomo de células T CD8+ de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención se puede elegir entre prácticamente cualquier epítomo de células T CD8+. En ciertas realizaciones, la carga heteróloga de epítomo de células T CD8+ tiene una afinidad de unión a una molécula de MHC de clase I caracterizada por una constante de disociación (K_D) de 10^{-4} molar o menos y/o el epítomo de clase I de MHC resultante- El complejo peptídico tiene una afinidad de unión a un receptor de células T (TCR) caracterizado por una constante de disociación (K_D) de 10^{-4} molar o menos.

[0513] Los epítomos de células T se pueden caracterizar empíricamente por una afinidad de unión, como se describió anteriormente. Los elementos estructurales críticos de un epítomo de células T pueden identificarse y analizarse adicionalmente usando ensayos conocidos por el experto, tales como, por ejemplo, una combinación de mutagénesis de barrido de alanina y experimentos de afinidad de unión, que también pueden tomar datos estructurales cristalográficos u otros datos estructurales empíricos. en cuenta. En algunos casos, se pueden estimar o calcular las

- contribuciones energéticas de algunos o todos los residuos de aminoácidos en el péptido-epítipo al complejo epítipo-MHC y/o al complejo epítipo-MHC-TCR. Ciertos residuos/posiciones pueden considerarse o categorizarse como determinantes para la afinidad de unión o neutros. Además, los residuos/posiciones/estructuras determinantes pueden clasificarse además como determinantes del contacto, determinantes de la especificidad y/o determinantes de la afinidad (véase, por ejemplo, Langman R, *Mol Immunol* 37: 555-61 (2000); Greenspan N, *Adv Cancer Res* 80 : 147-87 (2001); Cohn M, *Mol Immunol* 42: 651-5 (2005)). Ciertos epítipos de células T CD8+ pueden estar representados por una secuencia de aminoácidos consenso, que permite cierta variación en la identidad y/o posicionamiento de los aminoácidos.
- 5
- 10 [0514] En ciertas realizaciones de la presente invención, el péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo tiene al menos siete residuos de aminoácidos de longitud. En ciertas realizaciones de la presente invención, el péptido-epítipo de células T CD8+ está unido por un TCR con una afinidad de unión caracterizada por una KD menor que 10 milimolar (mM) (por ejemplo, 1-100 μ M) como se calcula usando la fórmula en Stone J et al., *Immunology* 126: 165-76 (2009). Sin embargo, cabe señalar que la afinidad de unión dentro de un intervalo dado entre el epítipo del MHC y el TCR puede no correlacionarse con la antigenicidad y/o la inmunogenicidad (véase, por ejemplo, Al-Ramadi B et al., *J Immunol* 155: 662-73 (1995).)), tal como debido a factores como la estabilidad del complejo MHC I-péptido-TCR, la densidad del MHC I-péptido y las funciones independientes de MHC de los cofactores de TCR tales como CD8 (Baker B et al., *Immunity* 13: 475-84 (2000) ; Hornell T et al., *J Immunol* 170: 4506-14 (2003); Woolridge L et al., *J Immunol* 171: 6650-60 (2003)).
- 15
- 20 [0515] Los epítipos de células T pueden elegirse o derivarse de varias moléculas fuente para su uso en la presente invención. Los epítipos de células T pueden crearse o derivarse de diversas proteínas naturales. Los epítipos de células T pueden crearse o derivarse de diversas proteínas naturales extrañas a los mamíferos, tales como, por ejemplo, proteínas de microorganismos. Los epítipos de células T pueden crearse o derivarse de proteínas humanas mutadas y/o proteínas humanas expresadas de forma aberrante por células humanas malignas. Los epítipos de células T pueden crearse sintéticamente o derivarse de moléculas sintéticas (véase, por ejemplo, Carbone F et al., *J Exp Med* 167: 1767-9 (1988); Del Val M et al., *J Virol* 65: 3641-6 (1991); Appella E et al., *Biomed Pept Proteins Nucleic Acids* 1: 177-84 (1995); Perez S et al., *Cancer* 116: 2071-80 (2010)).
- 25
- 30 [0516] El péptido-epítipo de células T CD8+ de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención se puede elegir entre varios antígenos conocidos, tales como, por ejemplo, epítipos inmunogénicos bien caracterizados de patógenos humanos, típicamente los virus patógenos más comunes y bacterias.
- 35 [0517] Los epítipos de células T CD8 + pueden identificarse mediante métodos de inmunología inversa conocidos por el experto, tales como, por ejemplo, enfoques genéticos, cribado de bibliotecas y elución de péptidos de células que presentan moléculas de MHC de clase I y su secuenciación mediante espectrometría de masas., (véase, por ejemplo, Van Der Bruggen P et al., *Immunol Rev* 188: 51-64 (2002)).
- 40 [0518] Además, se han desarrollado otros ensayos de unión de MHC I-péptido basados en una medida de la capacidad de un péptido para estabilizar el complejo ternario de MHC-péptido para un alelo de MHC de clase I determinado, como comparación con controles conocidos (p. ej., ensayo de unión del péptido MHC I de ProImmune, Inc., Sarasota, FL, EE. UU.). Dichos enfoques pueden ayudar a predecir la eficacia de un supuesto péptido-epítipo de células T CD8+ o a corroborar la evidencia empírica con respecto a un epítipo de células T CD8+ conocido.
- 45 [0519] Aunque se contempla el uso de cualquier epítipo de células T CD8+ como un epítipo de células T CD8+ heterólogo de la presente invención, ciertos epítipos de células T CD8+ pueden seleccionarse basándose en propiedades deseables. Uno de los objetivos es crear moléculas que reconocen células hiperinmunizadas de células T CD8+, lo que significa que el péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ es altamente inmunogénico porque puede provocar respuestas inmunes robustas in vivo cuando se presenta en forma de complejo con una molécula de MHC de clase I. en la superficie de una célula.
- 50 [0520] Los epítipos de células T CD8+ pueden derivarse de varias moléculas fuente que ya se sabe que son capaces de provocar una respuesta inmune en vertebrados. Los epítipos de células T CD8+ pueden derivarse de diversas proteínas naturales extrañas a los vertebrados, tales como, por ejemplo, proteínas de microorganismos patógenos y antígenos cancerosos no propios. En particular, los microorganismos infecciosos pueden contener numerosas proteínas con propiedades antigénicas y/o inmunogénicas conocidas. Además, los microorganismos infecciosos pueden contener numerosas proteínas con subregiones o epítipos antigénicos y/o inmunogénicos conocidos. Los epítipos de células T CD8+ pueden derivarse de proteínas humanas mutadas y/o proteínas humanas expresadas de forma aberrante por células humanas malignas, tales como, por ejemplo, proteínas mutadas expresadas por células cancerosas (véase, por ejemplo, Sjoblom T et al., *Science* 314: 268-74). (2006); Wood L et al., *Science* 318: 1108-13 (2007); Jones S et al., *Science* 321: 1801-6 (2008); Parsons D et al., *Science* 321: 1807-12 (2008) ; Wei X et al., *Nat Genet* 43: 442-6 (2011); Govindan R et al., *Cell* 150: 1121-34 (2012); Vogelstein B et al., *Science* 339: 1546-58 (2013); Boegel S et al., *Oncimmunology* 3: e954893 (2014)).
- 55
- 60 [0521] Los epítipos de células T CD8+ pueden elegirse o derivarse de varias moléculas fuente que ya se sabe que son capaces de provocar una respuesta inmune de mamíferos, incluidos péptidos, componentes peptídicos de
- 65

proteínas y péptidos derivados de proteínas. Por ejemplo, las proteínas de patógenos intracelulares con huéspedes mamíferos son fuentes de epítomos de células T CD8+. Existen numerosos patógenos intracelulares, como virus, bacterias, hongos y eucariotas unicelulares, con proteínas o péptidos antigénicos bien estudiados. Los epítomos de células T CD8+ pueden seleccionarse o identificarse a partir de virus humanos u otros patógenos intracelulares, tales como, por ejemplo, bacterias como micobacterias, hongos como toxoplasmas y protistas como tripanosomas.

[0522] Por ejemplo, existen muchos componentes peptídicos virales inmunogénicos conocidos de proteínas virales de virus que infectan a humanos. Se han asignado numerosos epítomos de células T CD8+ humanas a péptidos dentro de proteínas de los virus de la influenza A, como los péptidos en las proteínas HA glicoproteínas FE17, S139/1, CH65, C05, hemaglutinina 1 (HA1), hemaglutinina 2 (HA2), no estructurales. proteína 1 y 2 (NS1 y NS 2), proteína de matriz 1 y 2 (M1 y M2), nucleoproteína (NP), neuraminidasa (NA)), y se ha demostrado que muchos de estos péptidos provocan respuestas inmunes humanas, como por usando un ensayo ex vivo (ver, por ejemplo, Assarsson E et al, J Virol 82: 12241-51 (2008); Alexander Jet al., Hum Immunol 71: 468-74 (2010); Wang M et al., PLoS One 5: e10533 (2010); Wu J et al., Clin Infect Dis 51: 1184-91 (2010); Tan P et al., Human Vaccin 7: 402-9 (2011); Grant E et al., Immunol Cell Biol 91: 184-94 (2013); Terajima M et al., Virol J 10: 244 (2013)). De manera similar, numerosos epítomos de células T CD8+ humanas se han mapeado en componentes peptídicos de proteínas de citomegalovirus humanos (HCMV), como los péptidos en las proteínas pp65 (UL83), UL128-131, 1 inmediato-temprano (IE-1; UL 123).), la glicoproteína B, las proteínas del tegumento y muchos de estos péptidos han demostrado que provocan respuestas inmunitarias humanas, como mediante el uso de ensayos ex vivo (Schoppel K et al., J Infect Dis 175: 533-44 (1997); Elkington R et al, J Virol 77: 5226-40 (2003); Gibson L et al., J Immunol 172: 2256-64 (2004); Ryckman B et al., J Virol 82: 60-70 (2008); Sacre K et al., J Virol 82: 10143-52 (2008)).

[0523] Otro ejemplo es que hay muchos antígenos cancerosos inmunogénicos en humanos. Los epítomos de células T CD8+ de antígenos de células cancerosas y/o tumorales pueden ser identificados por el experto usando técnicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, genómica diferencial, proteómica diferencial, inmunoproteómica, predicción y a continuación validación, y enfoques genéticos como la inversa. -transfección genética (véase, por ejemplo, Admon A et al., Mol Cell Proteomics 2: 388-98 (2003); Purcell A, Gorman J, Mol Cell Proteomics 3: 193-208 (2004); Comber J, Philip R, Ther Adv Vacunas 2: 77-89 (2014)). Hay muchos epítomos de células T antigénicos y/o inmunogénicos ya identificados o que se prevé que ocurrirán en células cancerosas y/o tumorales humanas. Por ejemplo, se han predicho epítomos de células T en proteínas humanas comúnmente mutadas o sobreexpresadas en células neoplásicas, tales como, por ejemplo, ALK, CEA, N-acetilglucosaminil-transferasa V (GnT-V), HCA587, HER-2/neu, MAGE, Melan-A/MART-1, MUC-1, p53 y TRAG-3 (véase, por ejemplo, van der Bruggen P et al., Science 254: 1643-7 (1991); Kawakami Yet al., J Exp Med 180: 347-52 (1994); Fisk B et al., J Exp Med 181: 2109-17 (1995); Guilloux Yet al., J Exp Med 183: 1173 (1996); Skipper Jet al., J Exp Med 183: 527 (1996); Brossart P et al., 93: 4309-17 (1999); Kawashima I et al., Cancer Res 59: 431-5 (1999); Papadopoulos K et al., Clin Cancer Res 5: 2089-93 (1999); Zhu B et al., Clin Cancer Res 9: 1850-7 (2003); Li B et al., Clin Exp Immunol 140: 310-9 (2005); Ait-Tahar K et al., Int J Cancer 118: 688-95 (2006); Akiyama Y et al., Cancer Immunol Immunother 61: 2311-9 (2012)). Además, se han creado variantes sintéticas de epítomos de células T procedentes de células cancerosas humanas (véase, por ejemplo, Lazoura E, Apostolopoulos V, Curr Med Chem 12: 629-39 (2005); Douat-Casassus C et al., J Med Chem. 50: 1598-609 (2007)).

[0524] El término "carga" con respecto a un epítomo de células T CD8+ heterólogo se usa en el presente documento para significar que el epítomo de células T CD8+ heterólogo no está incluido ni incluido dentro de una región derivada del fragmento de toxina A1 de un polipéptido efector de toxina Shiga. o no está incluido o incluido dentro de un componente polipeptídico efector de toxina Shiga (véase, por ejemplo, el documento WO 2015/113005). Por lo tanto, una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede comprender múltiples epítomos de células T CD8+ heterólogos, pero solo uno que es una carga porque los otros epítomos de células T CD8+ heterólogos están incluidos o incluidos en una región del fragmento A1 de la toxina Shiga. de un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de las células.

[0525] Aunque se puede utilizar cualquier epítomo de células T CD8+ heterólogo en las composiciones de la presente invención, se pueden preferir ciertos epítomos de células T CD8+ en función de sus características conocidas y/o determinadas empíricamente. Se han descrito y/o pueden identificarse epítomos peptídicos inmunogénicos que provocan respuestas de células T CD8+ humanas usando técnicas conocidas por el experto (véase, por ejemplo, Kalish R, J Invest Dermatol 94: 108S-111S (1990); Altman J. et al., Science 274: 94-6 (1996); Callan M et al., J Exp Med 187: 1395-402 (1998); Dunbar P et al., Curr Biol 8: 413-6 (1998); Sourdive D et al., J Exp Med 188: 71-82 (1998); Collins E et al., J Immunol 162: 331-7 (1999); Yee C et al., J Immunol 162: 2227-34 (1999); Burrows S et al., J Immunol 165: 6229-34 (2000); Cheuk E et al., J Immunol 169: 5571-80 (2002); Elkington R et al, J Virol 77: 5226-40 (2003); Oh S et al., Cancer Res 64: 2610-8 (2004); Hopkins L et al., Hum Immunol 66: 874-83 (2005); Assarsson E et al, J Virol 12241-51 (2008); Semeniuk C et al., AIDS 23: 771-7 (2009); Wang X et al., J Vis Exp 61: 3657 (2012); Song H et al., Virology 447: 181-6 (2013); Chen L et al., J Virol 88: 11760-73 (2014)).

[0526] En muchas especies, el gen MHC codifica múltiples variantes moleculares de MHC-I. Debido a que los polimorfismos de la proteína MHC de clase I pueden afectar el reconocimiento del complejo antígeno-MHC de clase I por parte de las células T CD8+, se pueden elegir epítomos de células T heterólogos basándose en el conocimiento

sobre ciertos polimorfismos de MHC de clase I y/o la capacidad de ciertos polimorfismos de antígeno-MHC de clase I. complejos para ser reconocidos por células T de diferentes genotipos.

[0527] Hay epítomos peptídicos bien definidos que se sabe que son inmunogénicos, restringidos al MHC de clase I y/o coincidentes con una variante específica del antígeno leucocitario humano (HLA). Para aplicaciones en humanos o que involucren células diana humanas, el experto puede seleccionar o identificar epítomos restringidos por HLA de Clase I usando técnicas estándar conocidas en la técnica. La capacidad de los péptidos para unirse a moléculas MHC de clase I humanas se puede utilizar para predecir el potencial inmunogénico de supuestos epítomos de células T CD8+. La capacidad de los péptidos para unirse a moléculas MHC de clase I humanas se puede evaluar utilizando herramientas de software. Los epítomos de células T CD8+ pueden elegirse para su uso como componente de epítomo de células T heterólogo CD8+ de la presente invención basándose en la selectividad peptídica de las variantes de HLA codificadas por los alelos más prevalentes en ciertas poblaciones humanas. Por ejemplo, la población humana es polimórfica para la cadena alfa de las moléculas del MHC de clase I y los alelos variables están codificados por los genes HLA. Ciertos epítomos de células T pueden presentarse de manera más eficiente mediante una molécula de HLA específica, tal como, por ejemplo, las variantes de HLA que aparecen comúnmente codificadas por los grupos de alelos HLA-A HLA-A2 y HLA-A3.

[0528] Al elegir epítomos de células T CD8+ para su uso como componente heterólogo de péptido-epítomo de células T CD8+ de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, se pueden seleccionar epítomos CD8+ que mejor coincidan con las moléculas de MHC de Clase I presentes en el tipo de célula o las poblaciones de células a las que se dirigirá. Diferentes moléculas de MHC de clase I exhiben unión preferencial a secuencias peptídicas particulares, y los complejos TCR de las células T efectoras reconocen específicamente complejos péptido-variante de MHC de clase I particulares. El trabajador experto puede utilizar el conocimiento sobre las especificidades de las moléculas del MHC de clase I y las especificidades de los TCR para optimizar la selección de epítomos de células T heterólogas utilizados en la presente invención.

[0529] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogo está comprendido dentro de un polipéptido heterólogo, tal como, por ejemplo, un antígeno o una proteína antigénica. En determinadas realizaciones adicionales, el polipéptido heterólogo no tiene más de 27 kDa, 28 kDa, 29 kDa o 30 kDa.

[0530] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende dos o más péptidos-epítomos de células T CD8+ heterólogos. En ciertas realizaciones adicionales, el tamaño combinado de todos los epítomos-péptidos de células T CD8+ heterólogos no es mayor que 27 kDa, 28 kDa, 29 kDa o 30 kDa.

[0531] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogo se procesa mejor en células con más inmunoproteosomas, proteosomas intermedios y/o timoproteosomas en comparación con los proteosomas estándar; sin embargo, en otras realizaciones ocurre lo contrario.

[0532] Al elegir péptidos-epítomos de células T CD8+ para su uso como un componente heterólogo de péptido-epítomo de células T CD8+ de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, se pueden considerar múltiples factores en el sistema de presentación de MHC de clase I que puede influir en la generación y el transporte de epítomos de células T CD8+ a moléculas receptoras de MHC de clase I, como, por ejemplo, la especificidad de epítomos de los siguientes factores en la célula diana: proteosoma, ERAAP/ERAP1, tapasina y TAP (ver, por ejemplo, Akram A, Inman R, Clin Immunol 143: 99-115 (2012)).

[0533] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítomo heterólogo de células T CD8+ sólo se procesa proteolíticamente en una forma intacta mediante un proteosoma intermedio (véase, por ejemplo, Guillaume B et al., Proc Natl Acad Sci USA 107: 18599-604 (2010); Guillaume B et al., J Immunol 189: 3538-47 (2012)).

[0534] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogo no es destruido por proteosomas, inmunoproteosomas, proteosomas intermedios y/o timoproteosomas estándar, que también pueden depender de la tipo de célula, entorno de citoquinas, ubicación del tejido, etc. (ver, por ejemplo, Morel S et al., Immunity 12: 107-17 (2000); Chapiro J et al., J Immunol 176: 1053-61 (2006); Guillaume B et al., Proc Natl Acad Sci USA 107: 18599-604 (2010); Dalet A et al., Eur J Immunol 41: 39-46 (2011); Basler Met al., J Immunol 189: 1868-77 (2012)); Guillaume B et al., J Immunol 189: 3538-47 (2012)).

[0535] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítomo heterólogo de células T CD8+ se considera un epítomo "débil", tal como, por ejemplo, "débil" in vivo para provocar un CTL CD8+. respuesta en un sujeto o grupo de genotipo determinado o células derivadas de los antes mencionados (véase, por ejemplo, Cao W et al., J Immunol 157: 505-11 (1996)).

[0536] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ es un epítipo de células tumorales, tal como, por ejemplo, NY-ESO-1 157-165A (véase, por ejemplo, Jager E y col., J Exp Med 187: 265-70 (1998)).

5 [0537] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo se ha modificado para tener un residuo voluminoso o cargado en su extremo amino para aumentar la ubiquitinación (ver, por ejemplo, Grant E et al., J Immunol 155: 3750-8 (1995); Townsend A et al., J Exp Med 168: 1211-24 (1998); Kwon Y et al., Proc Natl Acad Sci USA 95: 7898 -903 (1998)).

10 [0538] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo se ha modificado para tener un residuo de aminoácido hidrófobo en su extremo carboxi con el fin de aumentar la probabilidad de escisión proteolítica (ver ej., Driscoll J et al., Nature 365: 262-4 (1993); Gaczynska M et al., Nature 365: 264-7 (1993)).

15 [0539] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo es un Tregitopo. Los tregitopos se definen funcionalmente como epítipos-péptidos capaces de inducir un resultado inmunosupresor. Los ejemplos de Tregitopos de origen natural incluyen subregiones de regiones constantes (Fcs) y Fabs de cadena pesada de inmunoglobulina G humana (véase, por ejemplo, Sumida T et al., Arthritis Rheum 40: 2271-3 (1997); Bluestone J, Abbas A, Nat Rev Immunol 3: 253-7 (2003); Hahn B et al., J Immunol 175: 7728-37 (2005); Durinovic-Bello I et al., Proc Natl Acad Sci USA 103: 11683-8 (2006); Sharabi A et al., Proc Natl AcadSci USA 103: 8810-5 (2006); De Groot A et al., Blood 112: 3303-11 (2008); Sharabi A et al., J Clin Immunol 30: 34-4 (2010); Mozes E, Sharabi A, Autoimmun Rev 10: 22-6 (2010)).

25 [0540] Tal como se define en las reivindicaciones, la carga de epítipo de células T CD8+ heterólogo está situada en el extremo carboxilo del polipéptido efector de la toxina Shiga.

[0541] En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células comprende dos o más péptidos-epítipos de células T CD8+ heterólogos. En determinadas realizaciones adicionales, los múltiples epítipos-péptidos de células T CD8+ heterólogos se derivan de diferentes especies, tales como, por ejemplo, diferentes especies de microorganismos. En determinadas realizaciones adicionales, los dos o más péptidos de epítipo de células T CD8+ heterólogos son de una bacteria y un virus o dos o más especies bacterianas diferentes (véase, por ejemplo, Engelhom M et al., Mol Ther 16: 773-81 (2008)). En determinadas realizaciones adicionales, los dos o más péptidos de epítipo de células T CD8+ heterólogos proceden de un microorganismo y una célula cancerosa humana.

35 C. Regiones de unión que reconocen células

[0542] La molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión de reconocimiento de células capaz de unirse específicamente a una biomolécula diana extracelular, como se define en las reivindicaciones.

40 [0543] En ciertas realizaciones, una región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención es un componente dirigido a células, tal como, por ejemplo, un dominio, resto molecular o agente, capaz de unirse específicamente a una parte extracelular de una biomolécula diana (por ejemplo, una biomolécula diana extracelular) con alta afinidad. Existen numerosos tipos de regiones de unión conocidas por los expertos o que pueden ser descubiertas por los expertos utilizando técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, cualquier componente dirigido a células que presente las características de unión requeridas descritas en el presente documento puede usarse como región de unión en determinadas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención.

50 [0544] Una parte extracelular de una biomolécula diana se refiere a una porción de su estructura expuesta al entorno extracelular cuando la molécula está físicamente acoplada a una célula, tal como, por ejemplo, cuando la célula expresa la biomolécula diana en una superficie celular. En este contexto, expuesto al entorno extracelular significa que parte de la biomolécula diana es accesible, por ejemplo, mediante un anticuerpo o al menos un resto de unión más pequeño que un anticuerpo, tal como un dominio de anticuerpo de dominio único, un nanocuerpo, una cadena pesada, dominio de anticuerpo derivado de camélidos o peces cartilaginosos, un fragmento variable de cadena única o cualquier número de estructuras alternativas diseñadas para las inmunoglobulinas (ver más abajo). La exposición al entorno extracelular o la accesibilidad a una parte de la biomolécula diana físicamente acoplada a una célula puede ser determinada empíricamente por un experto utilizando métodos bien conocidos en la técnica.

60 [0545] Una región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede ser, por ejemplo, un ligando, péptido, región de unión de tipo inmunoglobulina, anticuerpo monoclonal, derivado de anticuerpo diseñado o alternativa diseñada a anticuerpos.

65 [0546] En ciertas realizaciones, la región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención es un resto proteico capaz de unirse específicamente a una parte extracelular de la biomolécula objetivo con alta afinidad. Una región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede

comprender uno o más restos peptídicos o polipeptídicos diversos, tales como secuencias peptídicas generadas aleatoriamente, ligandos naturales o derivados de los mismos, dominios derivados de inmunoglobulinas, andamios diseñados sintéticamente como alternativas a los dominios de inmunoglobulinas, y similares (ver, por ejemplo, WO 2005/092917; WO 2007/033497; Cheung M et al., *Mol Cancer* 9: 28 (2010); US2013/196928; WO 2014/164693; WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2015/138452; WO 2015/191764). En determinadas realizaciones, una molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión que comprende uno o más polipéptidos capaces de unirse selectiva y específicamente a una biomolécula diana extracelular.

[0547] Existen numerosas regiones de unión conocidas en la técnica que son útiles para dirigir moléculas a tipos de células específicas a través de sus características de unión, tales como ciertos ligandos, anticuerpos monoclonales, derivados de anticuerpos diseñados y alternativas diseñadas a los anticuerpos.

[0548] Según un aspecto específico pero no limitante, la región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende un ligando natural o un derivado del mismo que retiene la funcionalidad de unión a una biomolécula diana extracelular, comúnmente un receptor de superficie celular. Por ejemplo, se pueden usar diversas citocinas, factores de crecimiento y hormonas conocidas en la técnica para dirigir la molécula de reconocimiento de células de la presente invención a la superficie celular de tipos de células específicos que expresan un receptor de citocina, un receptor de factor de crecimiento o un receptor de factor de crecimiento afín. receptor hormonal. Ciertos ejemplos no limitantes de ligandos incluyen (los nombres alternativos se indican entre paréntesis) angiogenina, factores activadores de células B (BAFF, APRIL), factores estimulantes de colonias (CSF), factores de crecimiento epidérmico (EGF), factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factores de crecimiento similares a la insulina (IGF), interferones, interleucinas (como IL-2, IL-6 e IL-23), factores de crecimiento nervioso (NGF), factores de crecimiento derivados de plaquetas, factores transformantes factores de crecimiento (TGF) y factores de necrosis tumoral (TNF).

[0549] Según otras determinadas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, la región de unión comprende un ligando sintético capaz de unirse a una biomolécula diana extracelular (véase, por ejemplo, Liang S et al., *J Mol Med* 84: 764-73 (2006); Ahmed S et al., *Anal Chem* 82: 7533-41 (2010); Kaur K et al., *Methods Mol Biol* 1248: 239-47 (2015)).

[0550] En ciertas realizaciones, la región de unión comprende un peptidomimético, tal como, por ejemplo, un péptido AA, un péptido gamma-AA y/o un péptido sulfon-γ-AA (véase, por ejemplo, Pilsel L, Reiser O, *Amino Acids* 41: 709-18 (2011); Akram O et al., *Mol Cancer Res* 12: 967-78 (2014); Wu H et al., *Chemistry* 21: 2501-7 (2015); Teng P et al., *Chemistry* 2016 Mar 4).

[0551] Según un aspecto específico, pero no limitante, la región de unión puede comprender una región de unión de tipo inmunoglobulina. El término "región de unión de tipo inmunoglobulina" como se usa en el presente documento se refiere a una región polipeptídica capaz de unirse a una o más biomoléculas diana, tales como un antígeno o epítipo. Las regiones de unión pueden definirse funcionalmente por su capacidad para unirse a moléculas diana. Las regiones de unión de tipo inmunoglobulina comúnmente derivan de anticuerpos o estructuras similares a anticuerpos; sin embargo, dentro del alcance del término se contemplan andamios alternativos de otras fuentes.

[0552] Las proteínas de inmunoglobulina (Ig) tienen un dominio estructural conocido como dominio de Ig. Los dominios de Ig varían en longitud entre aproximadamente 70 y 110 residuos de aminoácidos y poseen un plegamiento de Ig característico, en el que típicamente de 7 a 9 cadenas beta antiparalelas se organizan en dos láminas beta que forman una estructura similar a un sándwich. El pliegue de Ig se estabiliza mediante interacciones de aminoácidos hidrófobos en las superficies internas del sándwich y enlaces disulfuro altamente conservados entre los residuos de cisteína en las hebras. Los dominios de Ig pueden ser variables (IgV o V-set), constantes (IgC o C-set) o intermedios (Igl o I-set). Algunos dominios de Ig pueden estar asociados con una región determinante de la complementariedad (CDR), también denominada "región determinante complementaria", que es importante para la especificidad de los anticuerpos que se unen a sus epítopos. Los dominios similares a Ig también se encuentran en proteínas que no son inmunoglobulinas y, sobre esa base, se clasifican como miembros de la superfamilia de proteínas Ig. El Comité de Nomenclatura de Genes de HUGO (HGNC) proporciona una lista de miembros de la familia que contiene dominios similares a Ig.

[0553] Una región de unión de tipo inmunoglobulina puede ser una secuencia polipeptídica de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo en donde la secuencia de aminoácidos se ha variado de la de un anticuerpo nativo o un dominio similar a Ig de una proteína no inmunoglobulina. por ejemplo mediante ingeniería molecular o selección mediante cribado de bibliotecas. Debido a la relevancia de las técnicas de ADN recombinante y el cribado de bibliotecas in vitro en la generación de regiones de unión de tipo inmunoglobulina, los anticuerpos se pueden rediseñar para obtener las características deseadas, como un tamaño más pequeño, entrada celular u otras mejoras para uso terapéutico y/o in vivo. aplicaciones. Las posibles variaciones son muchas y pueden ir desde el cambio de un solo aminoácido hasta el rediseño completo de, por ejemplo, una región variable. Normalmente, se realizarán cambios en la región variable para mejorar las características de unión al antígeno, mejorar la estabilidad de la región variable o reducir el potencial de respuestas inmunogénicas.

- [0554] Hay numerosas regiones de unión de tipo inmunoglobulina contempladas como componentes de la presente invención. En determinadas realizaciones, la región de unión de tipo inmunoglobulina se deriva de una región de unión de inmunoglobulina, tal como un paratopo de anticuerpo capaz de unirse a una biomolécula diana extracelular. En ciertas otras realizaciones, la región de unión de tipo inmunoglobulina comprende un polipéptido diseñado no derivado de ningún dominio de inmunoglobulina pero que funciona como una región de unión de inmunoglobulina al proporcionar una unión de alta afinidad a una biomolécula diana extracelular. Este polipéptido diseñado puede incluir de manera opcional estructuras polipeptídicas que comprenden o consisten esencialmente en regiones determinantes complementarias de inmunoglobulinas como se describe en el presente documento.
- [0555] También existen numerosas regiones de unión en la técnica anterior que son útiles para dirigir polipéptidos a tipos de células específicos a través de sus características de unión de alta afinidad. En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, la región de unión comprende un dominio de inmunoglobulina seleccionado del grupo que incluye dominios VH autónomos, dominios de anticuerpos de dominio único (sdAbs), dominios de anticuerpos de cadena pesada derivados de camélidos (V fragmentos_H H o fragmentos de dominio V_H), dominios de anticuerpos de cadena pesada derivados de peces cartilaginosos, receptores de nuevos antígenos de inmunoglobulina (IgNAR), fragmentos V_{NAR}, fragmentos variables de cadena única (scFv), nanocuerpos, fragmentos Fd que constan de los dominios CH 1 y de cadena pesada, fragmentos de dominio variable (Fv) de anticuerpo, Fv permutados (pFv), minicuerpos Fv-CH 3 de cadena única, fragmentos de dominio CH2 dimérico (CH2D), dominios de unión a antígeno Fc (Fcabs), fragmentos aislados de la región determinante complementaria 3 (CDR3), región marco restringida 3, CDR3, polipéptidos de la región marco 4 (FR3-CDR3-FR4), inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP), fusiones scFv-Fc, construcciones Fab monocatenarias de un brazo, fragmentos scFv multimerizantes (diacuerpos, tricuerpos, tetracuerpos), fragmentos variables de anticuerpos (Fv) estabilizados con disulfuro, fragmentos de unión a antígeno (Fab) estabilizados con disulfuro que consisten en de los dominios VL, VH, CL y CH1, nanocuerpos bivalentes, minicuerpos bivalentes, fragmentos F(ab')₂ bivalentes (dímeros Fab), VH en tándem biespecífico Fragmentos H, fragmentos scFv en tándem biespecíficos, nanocuerpos biespecíficos, minicuerpos biespecíficos, construcciones biespecíficas heterodiméricas Fab de cadena única de un brazo y cualquier contraparte manipulada genéticamente de los anteriores que conserve su funcionalidad de unión. 107-17 (1997); Wörn A, Plückerthun A, *J Mol Biol* 305:989-1010 (2001); Xu L et al., *Chem Biol* 9:933-42 (2002); Wikman M et al., *Protein Eng Des Sel* 17: 455-62 (2004); Binz et al., *Nat Biotechnol* 23: 1257-68 (2005); *Nat Biotechnol* 23:1126-36 (2005); Gill D, Damle N, *Curr Opin Biotech* 17:653-8 (2006); *JBiol Chem* 285: 12096 (2010); Zoller F et al, *Molecules* 16: 2467-85 (2011); Alfaraño P et al, *Protein Sci* 21: 1298-314 (2012); *Protein Sci* 21:1015-28 (2012); Varadamsetty G et al., *J Mol Biol* 424:68-87 (2012); Schanzer J et al., *J Biol Chem* 289:18693-706 (2014)).
- [0556] En ciertas realizaciones, la región de unión de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención se selecciona del grupo que incluye dominios VH autónomos (tales como, por ejemplo, de fuentes de camélidos, murinos o humanos), dominio único dominios de anticuerpos (sdAbs), dominios de anticuerpos de cadena pesada derivados de camélidos (fragmentos VHH o fragmentos de dominio VH), dominios de anticuerpos de cadena pesada derivados de fragmentos VHH de camélidos o fragmentos de dominio VH, dominios de anticuerpos de cadena pesada derivados de peces cartilaginosos, receptores de nuevos antígenos de inmunoglobulinas (IgNAR), fragmentos V_{NAR}, fragmentos variables de cadena única (scFv), nanocuerpos, armazones "camelizados" o "camelizados" que comprenden un dominio V_H, fragmentos Fd que consisten en la cadena pesada y C Dominios H 1, minicuerpos Fv-CH 3 de cadena única, fragmentos de dominio CH 2 dimérico (CH2D), dominios de unión a antígeno Fc (Fcabs), fragmentos aislados de la región determinante complementaria 3 (CDR3), región marco restringida 3, CDR3, polipéptidos de la región estructural 4 (FR3-CDR3-FR4), pequeños dominios inmunofarmacéuticos modulares (SMIP), fusiones scFv-Fc, fragmentos scFv multimerizantes (diacuerpos, tricuerpos, tetracuerpos), fragmentos variables (Fv) de anticuerpos estabilizados con disulfuro (dsFv), disulfuro-fragmentos de unión a antígeno (Fab) estabilizados que consisten en los dominios VL, VH, CL y CH1, fragmentos de región variable de cadena únicas que comprenden una cadena pesada y ligera estabilizada con disulfuro (scdsFvs), nanocuerpos bivalentes, bivalentes minicuerpos, fragmentos bivalentes F(ab')₂ (dímeros Fab), tándem biespecífico V_H Fragmentos H, fragmentos scFv en tándem biespecíficos, nanocuerpos biespecíficos, minicuerpos biespecíficos y cualquier contraparte manipulada genéticamente de los anteriores que conserve su paratopo y función de unión (véase Ward E et al., *Nature* 341:544-6 (1989); Riechmann L, *Biotechnology (NY)* 13:475-9 (1995); Reiter Y et al., *Mol Biol* 290:685-98 (1999); *J Immunol Methods* 263:97-109 (2002); Jespers L et al., *J Mol Biol* 337:893-903 (2004); Jespers L et al., *Nat Biotechnol* 22:1161-5 (2004); *JBiol Chem* 280:41395-403 (2005); Tanha J et al., *Protein Eng Des Cell* 19: 503-9 (2006); 8 (2008); Dimitrov D, *MAbs* 1:26-8 (2009); Chen I et al., *MolBiosyst* 6:1307-15 (2010); Huang Y et al., *J Biol Chem* 285:7880-91 (2010).); Lee et al., *Biochem Biophys Res Commun* 411: 348-53 (2011); Ahmad Z et al., *Clin Dev Immunol* 2012: 980250 (2012); Baral T et al., *PLoS One* 7:e30149 (2012); Weiner L, *celda* 148:1081-4 (2012)).
- [0557] En ciertas realizaciones, la región de unión de una molécula de la presente invención es multivalente y biespecífica, pero la especificidad es para una única diana, es decir, la biespecificidad se debe a diferentes regiones de unión que unen diferentes epítopos extracelulares presentes en el mismo o en un solo objetivo. biomolécula diana extracelular (véase, por ejemplo, Schanzer J et al., *Antimicrob Agents Chemother* 55: 2369-78 (2011)).
- [0558] Los dominios y/o fragmentos de inmunoglobulina pueden modificarse para su uso como un resto dirigido a células en una molécula de reconocimiento de células de la presente invención mediante la adición o eliminación de

un residuo de cisteína y/o un enlace disulfuro. y/o modificación de otros residuos (véase, por ejemplo, Young N et al., FEBS Lett 377: 135-9 (1995); Wirtz P, Steipe B, Protein Sci 8: 2245-50 (1999); Barthelemy P et al., J Biol Chem 283: 3639-54 (2008); Arabi-Ghahroudi M et al., Protein Eng Des Sel 22: 59-66 (2009); Zhao Jet al., Int J Mol Sci 12: 1-11 (2010); Duan Y et al., Mol Immunol 51: 188-96 (2012); Kim D et al., Protein Eng Des Sel 25: 581-9 (2012) Gil D, Schrum A, Adv Biosci Biotechnol 4: 73-84 (2013)).

[0559] En ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina que comprende un dominio de inmunoglobulina y/o una estructura de Ig que tiene un enlace disulfuro intradominio, tal como, por ejemplo, el enlace disulfuro. enlace que se encuentra de forma nativa entre las cadenas β B y F de ciertas inmunoglobulinas y/o un enlace disulfuro entre sus cadenas pesada y ligera de o derivadas de una inmunoglobulina. Sin embargo, en ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, las moléculas son muy estables incluso aunque no comprendan un enlace disulfuro intradominio o ningún enlace disulfuro intradominio dentro de una o más regiones de unión de tipo inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Proba K et al., Biochemistry 37: 13120-7 (1998); Wörn A, Plückthun A, Biochemistry 37: 13120-7 (1998); Wörn A, Plückthun A, FEBS Lett 427: 357-61 (1998); Ramm K et al., J Mol Biol 290: 535-46 (1999); Tanaka T, Rabbitts T, J Mol Biol 376: 749-57 (2008)).

[0560] En ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina derivada de una inmunoglobulina que ha sido diseñada con ciertas mutaciones de la "tétrada" VHH de camélido para mejorar la solubilidad, mejorar la estabilidad y/o o "camelizar" de otro modo la región de unión (véase, por ejemplo, Vincke C et al., J Biol Chem 284: 3273-84 (2009); Perchiacca J et al., Proteins 79: 2637-47 (2011); Gil D, Schrum A, Adv Biosci Biotechnol 4: 73-84 (2013)).

[0561] El trabajador experto puede utilizar numerosos enfoques conocidos en la técnica para minimizar y/o prevenir la agregación de moléculas que comprenden dominios y/o fragmentos de inmunoglobulina o que comprenden de otro modo componentes derivados de inmunoglobulinas (véase, por ejemplo, Jespers L et al., Nat Biotechnol 22: 1161-5 (2004); Daugherty A, Mrsny R, Adv Drug Deliv Rev 58: 686-706 (2006); Christ D et al., Protein Eng Des Sel 20: 413-6 (2007); Wang W et al., J Pharma Sci 96: 1-26 (2007); Famm K et al., J Mol Biol 376: 926-31 (2008); Arabi-Ghahroudi M et al., Protein Eng Des Sel 22: 59-66 (2009); Wang X et al., MAbs 1: 254-267 (2009); Dudgeon K et al., Proc Natl Acad Sci USA 109: 10879-84 (2012); Kim D et al., Methods Mol Biol 911: 355-72 (2012); Perchiacca J et al., Protein Eng Des Sel 25: 591-601 (2012); Schaefer J, Plückthun A, J Mol Biol 417: 309-335 (2012); Buchanan A et al., MAbs 5: 255-62 (2013); Lee C et al., Trends Biotechnol 31: 612-20 (2013); Tiller T et al., MAbs 5: 445-470 (2013); Kim D et al., Biochim Biophys Acta 1844: 1983-2001 (2014); Perchiacca J et al., Protein Eng Des Sel 27: 29-39 (2014); Rouet R et al., FEBS Lett 588: 269-77 (2014); Swift J et al., Protein Eng Des Sel 27: 405-9 (2014); Enever C et al., Protein Eng Des Sel 28: 59-68 (2015)).

[0562] El trabajador experto puede utilizar la adición o el mantenimiento de enlaces disulfuro intermoleculares para estabilizar ciertas regiones de unión de las moléculas que reconocen células de la presente invención (véase, por ejemplo, Glockshuber R et al., Biochemistry 29: 1362-7 (1990); Stanfield R et al., Science 305: 1770-3 (2004); Hagihara Y et al., J Biol Chem 282: 36489-95 (2007); Chan P et al., Biochemistry 47: 11041-54 (2008); Saerens D et al., J Mol Biol 478-88 (2008); Hussack G et al., PLoS One 6: e28218 (2011); Govaert J et al., J Biol Chem 287: 1970-9 (2012); Kim D et al., Protein Eng Des Sel 25: 581-9 (2012); Gil D, Schrum A, Adv Biosci Biotechnol 4: 73-84 (2013); McConnell A et al., Protein Eng Des Sel 25: 581-9 (2013); Feige M et al., Proc Natl Acad Sci USA 111: 8155-60 (2014); Hagihara Y, Saerens D, Biochim Biophys Acta 1844: 2016-2023 (2014); Kim D et al., MAbs 6 : 219-35 (2014)).

[0563] Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención está diseñada para minimizar la formación de asociaciones, multímeros y/o agregados intermoleculares no deseados, tales como, por ejemplo, mediante el uso de scFv estabilizados con disulfuro. Fragmentos Fv, o Fabs (véase, por ejemplo, Reiter Y et al., J Biol Chem 269: 18327-31 (1994); Kuan C, Pastan I, Biochemistry 35: 2872-7 (1996); Almog O et al., Proteins 31. : 128-38 (1998); Schoonjans R et al., J Immunol 165: 7050-7 (2000); Olafsen T et al., Protein Eng Des Sel 17: 21-7 (2004); Gil D, Schrum A, Adv Biosci Biotechnol 4: 73-84 (2013); EE.UU. 20120283418); conexiones de bucle de base (véase, por ejemplo, Brinkmann U et al., J Mol Biol 268: 107-17 (1997)); y/u otras modificaciones, tales como la adición de residuos cargados, glicanos y/o truncamientos de dominios de inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Gong R et al., Mol Pharm 10: 2642-52 (2013); Lee C et al., Trends Biotechnol 31: 612-20 (2013); Goldman E et al., Protein Expr Purif 95: 226-32 (2014)).

[0564] En ciertas realizaciones de la presente invención, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión de tipo inmunoglobulina que es un scFv diseñado para no agregarse, tal como, por ejemplo, usando un enlazador más corto (típicamente menos de doce residuos de aminoácidos) y/o enlazador estabilizado con disulfuro que une las regiones de cadena pesada y ligera del scFv (véase, por ejemplo, Brinkmann U et al., Proc Natl Acad Sci USA 90: 7538-42 (1993); Whitlow M et al., Protein Engineering 6: 989-95 (1993); Reiter Y et al., Biochemistry 33: 5451-9 (1994); Gong R et al., Molecular Pharmaceutics 10: 2642-52 (2013)).

[0565] Hay una variedad de regiones de unión que comprenden polipéptidos derivados de las regiones constantes de inmunoglobulinas que pueden usarse como regiones de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, tales como, por ejemplo, dominios Fc diméricos diseñados. Fcs monoméricos (mFcs), scFv-Fcs,

VH_H-Fcs, dominios CH₂, dominios C_H3 monoméricos (mC_H3s), dominios de inmunoglobulina reprogramados sintéticamente y/o fusiones híbridas de dominios de inmunoglobulina con ligandos (Hofer T et al., Proc Natl Acad Sci USA 105: 12451-6 (2008); Xiao J et al., J Am Chem Soc 131: 13616-8 (2009); Xiao X et al., Biochem Biophys Res Commun 387: 387-92 (2009); Wozniak-Knopp G et al., Protein Eng Des Sel 23 289-97 (2010); Gong R et al., PLoS ONE 7: e42288 (2012); Wozniak-Knopp G et al., PLoS ONE 7: e30083 (2012); Ying T et al., J Biol Chem 287: 19399-408 (2012); Ying T et al., J Biol Chem 288: 25154-64 (2013); Chiang M et al., J Am Chem Soc 136: 3370-3 (2014); Rader C, Trends Biotechnol 32: 186-97 (2014); Ying T et al., Biochimica Biophys Acta 1844: 1977-82 (2014)).

[0566] De acuerdo con otras realizaciones determinadas, la región de unión comprende uno o más dominios de inmunoglobulina que no provienen de una inmunoglobulina tradicional sino que provienen de un receptor unido a una membrana celular que funciona como parte del sistema inmunológico. En determinadas realizaciones, la región de unión de reconocimiento de células de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende o consiste esencialmente en un fragmento variable del receptor de células T de cadena única (scTv), un TCR de cadena única (scTCR), disulfuro- fragmento variable del receptor de células T estabilizado (dsTv), y/o heterodímero Fv estabilizado con disulfuro del fragmento variable del receptor de células T (heterodímero TCR dsFv).

[0567] En ciertas realizaciones, la región de unión de reconocimiento de células de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es un fragmento variable de receptor de células T de cadena única soluble (scTv soluble) y/o heterodímero de dsFv de TCR (véase, por ejemplo, Novotny J et al., Proc Natl Acad Sci USA 88: 8646-50 (1991); Soo Hoo, W et al., Proc Natl Acad Sci USA 89: 4759-63 (1992); Shusta E et al., J Mol Biol 292: 949-56 (1999); Holler P et al., Proc Natl Acad Sci USA 97: 5387-92 (2000); Boulter J et al., Protein Eng 16: 707-11 (2003); Li Y et al., Nat Biotechnol 23: 349-54 (2005); Weber K et al., Proc Natl Acad Sci USA 102: 19033-8 (2005); Dunn S et al., Protein Sci 15: 710-21 (2006); Richman S, Kranz D, Biomol Eng 24: 361-73 (2007); Varela-Rohena A et al., Nat Med 14: 1390-5 (2008); Sadelain M et al., Curr Opin Immunol 21: 215-23 (2009); Aggen D et al., Protein Eng Des Sel 24: 361-72 (2011); WO1999060120; WO2001057211; WO2003020763; US 7,329,731). A diferencia de la mayoría de las inmunoglobulinas, los scTv naturales normalmente se unen con afinidad moderada a un complejo de proteína péptido-epitopo-MHC. Si bien los scTv aislados se unen a dichos objetivos de la superficie celular (es decir, biomoléculas objetivo extracelulares acopladas físicamente a las células en forma de pMHC), los scTv también pueden conservar su especificidad de unión para dirigirse a las células tras la fusión con una molécula efectora, como una proteína toxina. (véase, por ejemplo, Epel Met al., Cancer Immunol Immunother 51: 563-73 (2002)). Si bien estos scTv pueden diseñarse para reconocer nuevos objetivos con unión, especificidad y selectividad de alta afinidad, los objetivos suelen ser complejos de proteína MHC, epitopo no propio y péptido que se muestran en las superficies de las células de los vertebrados. Sin embargo, los TCR naturales que han sido eliminados durante la selección tímica a menudo se unen a complejos autoepitopo-MHC con altas afinidades. Además, el scTv puede mutarse en su(s) dominio(s) variable(s) para mejorar la afinidad y/o la estabilidad de las interacciones de unión deseadas (véase, por ejemplo, Shusta E et al., Nat Biotechnol 18: 754-9 (2000); Richman S et al., Mol Immunol 46: 902-16 (2009)). La introducción de mutaciones que aumentan la solubilidad en un scTCR y/o un enlace disulfuro no nativo en la región invariante de TCR, para producir dsTCR, puede aumentar en gran medida la estabilidad y las características de plegamiento de un scTv (véase, por ejemplo, Molloy P et al., Curr Opin Pharmacol 5: 438-43 (2005); WO2003020763). Además, puede mejorar la estabilidad y la producción de un scTv orientando los dominios del scTCR en la orientación amino a carboxi del dominio V α -enlazador-dominio V β (Loset G et al., Protein Eng Des Sel 20: 461- 72 (2007); Richman S et al., Mol Immunol 46: 902-16 (2009)). La introducción de diversas mutaciones también puede mejorar la expresión en un sistema de células huésped, por ejemplo, en células de levadura (véase, por ejemplo, Richman S et al., Mol Immunol 46: 902-16 (2009)).

[0568] De acuerdo con ciertas otras realizaciones, la región de unión comprende un andamiaje alternativo diseñado para los dominios de inmunoglobulina. Se conocen en la técnica armazones alternativos diseñados que exhiben características funcionales similares a las estructuras derivadas de inmunoglobulinas, tales como alta afinidad y unión específica de biomoléculas objetivo, y pueden proporcionar características mejoradas a ciertos dominios de inmunoglobulinas, tales como, por ejemplo, mayor estabilidad o reducción. inmunogenicidad. Generalmente, los andamios alternativos a las inmunoglobulinas tienen menos de 20 kilodaltons (kDa), constan de una sola cadena polipeptídica, carecen de residuos de cisteína y exhiben una estabilidad termodinámica relativamente alta.

[0569] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, la región de unión de tipo inmunoglobulina se selecciona del grupo que incluye polipéptidos de repetición de Armadillo (ArmRP) diseñados; décimo dominio de fibronectina tipo III (10Fn3) diseñado, derivado de fibronectina (monocuerpos, AdNectins[™] o AdNexins[™]); dominios de tenascina tipo III diseñados, derivados de tenascina (Centryns[™]); motivo de repetición de anquirina diseñado que contiene polipéptidos (DARPin[™]); dominios A (LDLR-A) derivados de receptores de lipoproteínas de baja densidad (Avimers[™]); lipocalinas (anticalinas); dominios Kunitz diseñados, derivados de inhibidores de proteasa; dominios Z diseñados, derivados de proteína A (Affibodies[™]); armazón diseñado derivado de cristalina gamma-B o armazón diseñado derivado de ubiquitina (Affilins); Polipéptidos derivados de Sac7d (Nanofitins[®] o affitins); dominios SH2 diseñados, derivados de Fyn (Fynomers[®]); e imitadores de anticuerpos diseñados y cualquier contraparte manipulada genéticamente de los anteriores que conserve su funcionalidad de unión (Wörn A, Plückthun A, J Mol Biol 305: 989-1010 (2001); Xu Let al., Chem Biol 9: 933-42 (2002); Wikman M et al., Protein Eng Des Sel 17: 455-62 (2004); Binz H et al., Nat Biotechnol 23: 1257-68 (2005); Hey T et al., Trends Biotechnol 23:514- 522 (2005); Holliger P, Hudson P, Nat Biotechnol 23: 1126-36 (2005); Gill D, Damle N, Curr Opin Biotech 17: 653-8 (2006); Koide A, Koide S, Methods Mol Biol 352 : 95-109 (2007); Byla P et al., J Biol Chem 285: 12096 (2010);

Zoller F et al., *Molecules* 16: 2467-85 (2011); Alfarano P et al., *Protein Sci* 21: 1298-314 (2012); Madhurantakam C et al., *Protein Sci* 21: 1015-28 (2012); Varadamsetty G et al., *J Mol Biol* 424: 68-87 (2012)).

5 [0570] Por ejemplo, existe un andamio de región de unión Fn3(CD20) diseñado que exhibe unión de alta afinidad a células que expresan CD20 (Natarajan A et al., *Clin Cancer Res* 19: 6820-9 (2013)).

[0571] Por ejemplo, se han identificado numerosos andamios alternativos que se unen al receptor extracelular HER2 (véase, por ejemplo, Wikman M et al., *Protein Eng Des Sel* 17: 455-62 (2004); Orlova A et al. *Cancer Res* 66: 4339-8 (2006); Ahlgren S et al., *Bioconjug Chem* 19: 235-43 (2008); Feldwisch Jet al., *J Mol Biol* 398: 232-47 (2010)); patentes de Estados Unidos 5.578.482; 5.856.110; 5.869.445; 5.985.553 ; 6.333.169; 6.987.088; 7.019.017; 7.282.365; 7.306.801; 7.435.797; 7.446.185; 7.449.480; 7.560.111; 7.674.460; 7.815.906; 7.879.325; 7.884.194; 7.993.650; 8.241.630; 8.349.585; 8.389.227; 8.501.909; 8.512.967; 8.652.474; y solicitud de patente de Estados Unidos 20110059090). Además de los formatos de anticuerpos alternativos, las capacidades de unión similares a las de los anticuerpos pueden ser conferidas por compuestos no proteicos, tales como, por ejemplo, oligómeros, moléculas de ARN, moléculas de ADN, carbohidratos y glicocalixcalixarenos (véase, por ejemplo, Sansone F, Casnati A, *Chem Soc Rev.* 42: 4623-39 (2013)) o compuestos parcialmente proteicos, tales como, por ejemplo, oligómeros cíclicos de fenol-formaldehído acoplados con péptidos y composiciones de calixareno-péptido (véase, por ejemplo, el documento US 5.770.380).

20 [0572] En ciertas realizaciones, puede ser preferible usar dominios de inmunoglobulina resistentes a proteasas y/o fragmentos scFv estabilizados sintéticamente, como para evitar la inestabilidad durante el almacenamiento o después de la administración, pero antes de llegar a una célula diana (ver, por ejemplo, Ewert S et al., *Methods* 34: 184-99 (2004); Honegger et al., *Protein Eng Des Sel* 22: 135-47 (2009); Miller et al., *Protein Eng Des Sel* 23: 549-57 (2010); Hussack G et al., *Protein Eng Des Sel* 27: 191-8 (2014)).

25 [0573] Cualquiera de las estructuras de la región de unión anteriores se puede usar como componente de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención siempre que el componente de la región de unión tenga una constante de disociación de 10^{-5} a 10^{-12} moles por litro, preferiblemente menos de 200 nanomolar (nM), hacia una biomolécula diana extracelular.

30 [0574] En ciertas realizaciones, las moléculas que reconocen células de la presente invención comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga de la presente invención unido y/o fusionado a una región de unión capaz de unirse específicamente a una parte extracelular de una biomolécula diana o una diana extracelular. biomolécula. Las biomoléculas diana extracelulares se pueden seleccionar basándose en numerosos criterios, tales como un criterio descrito en el presente documento.

Biomoléculas diana extracelulares unidas por las regiones de unión

40 [0575] En ciertas realizaciones, la región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región proteica capaz de unirse específicamente a una parte extracelular de una biomolécula objetivo o una biomolécula objetivo extracelular, preferiblemente que está físicamente acoplada a la superficie. de un tipo de célula de interés, tal como, por ejemplo, una célula cancerosa, una célula tumoral, una célula plasmática, una célula infectada o una célula huésped que alberga un patógeno intracelular. Preferiblemente, el tipo de célula objetivo expresará una molécula o moléculas de MHC de clase I. Las biomoléculas diana unidas por la región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención pueden incluir biomarcadores presentes de manera excesiva o exclusiva en células cancerosas, células inmunitarias y/o células infectadas con patógenos intracelulares, tales como, por ejemplo, virus, bacterias., hongos, priones o protozoos.

50 [0576] El término "biomolécula diana" se refiere a una molécula biológica, comúnmente una molécula proteica o una proteína modificada mediante modificaciones postraduccionales, tales como glicosilación, que está unida por una región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. dando como resultado el direccionamiento de la molécula de reconocimiento de células a una célula, tipo de célula y/o ubicación específica dentro de un organismo multicelular.

55 [0577] Para los fines de la presente invención, el término "extracelular" con respecto a una biomolécula diana se refiere a una biomolécula que tiene al menos una parte de su estructura expuesta al entorno extracelular. El experto puede determinar empíricamente la exposición al entorno extracelular o la accesibilidad a una parte de la biomolécula diana acoplada a una célula utilizando métodos bien conocidos en la técnica. Los ejemplos no limitantes de biomoléculas diana extracelulares incluyen componentes de la membrana celular, proteínas que atraviesan la membrana celular, biomoléculas ancladas a la membrana celular, biomoléculas unidas a la superficie celular y biomoléculas secretadas.

60 [0578] Con respecto a la presente invención, la frase "acoplado físicamente" cuando se usa para describir una biomolécula objetivo significa que interacciones intermoleculares covalentes y/o no covalentes acoplan la biomolécula objetivo, o una porción de la misma, al exterior de una célula. tales como una pluralidad de interacciones no covalentes entre la biomolécula objetivo y la célula donde la energía de cada interacción individual es del orden de al menos aproximadamente 1-5 kilocalorías (por ejemplo, enlaces electrostáticos, enlaces de hidrógeno, enlaces iónicos, Van

der Walls interacciones, fuerzas hidrofóbicas, etc.). Todas las proteínas integrales de membrana se pueden encontrar físicamente acopladas a una membrana celular, así como las proteínas de membrana periférica. Por ejemplo, una biomolécula diana extracelular podría comprender una región que abarca transmembrana, un anclaje lipídico, un anclaje glicolípido y/o estar asociada de forma no covalente (por ejemplo, mediante interacciones hidrofóbicas no específicas y/o interacciones de unión a lípidos) con un factor que comprende cualquier uno de los anteriores.

[0579] Las partes extracelulares de biomoléculas diana pueden incluir diversos epítomos, incluidos polipéptidos no modificados, polipéptidos modificados mediante la adición de grupos funcionales bioquímicos y glicolípidos (véanse, por ejemplo, los documentos US 5.091.178; EP2431743).

[0580] Las regiones de unión de las moléculas que reconocen células de la presente invención se pueden diseñar o seleccionar basándose en numerosos criterios, tales como la expresión específica del tipo celular de sus biomoléculas objetivo, la localización física de sus biomoléculas objetivo con respecto a tipos de células y/o las propiedades de sus biomoléculas diana. Por ejemplo, ciertas moléculas que reconocen células de la presente invención comprenden regiones de unión capaces de unirse a biomoléculas objetivo de la superficie celular que se expresan en una superficie celular exclusivamente por solo un tipo de célula de una especie o solo un tipo de célula dentro de un organismo multicelular. Es deseable, pero no necesario, que una biomolécula diana extracelular se internalice intrínsecamente o se obligue fácilmente a internalizarse al interactuar con una molécula de reconocimiento de células de la presente invención.

[0581] El experto apreciará que se puede usar cualquier biomolécula diana deseada para diseñar o seleccionar una región de unión adecuada para asociar y/o acoplar con un polipéptido efector de toxina Shiga para producir una molécula de reconocimiento de células de la presente invención.

[0582] La estructura general de las moléculas que reconocen células de la presente invención es modular, en el sentido de que se pueden usar diversas regiones de unión que reconocen células con diversos polipéptidos efectores de la toxina Shiga y péptidos-epítomos de células T CD8+ para proporcionar diversos direccionamiento y suministro de varios epítomos al sistema MHC clase I de diversos tipos de células diana. De manera opcional, una molécula de reconocimiento de células de la presente invención (por ejemplo, proteína) puede comprender además un motivo de señal de conservación/recuperación endoplasmática carboxi-terminal, tal como, por ejemplo, los aminoácidos KDEL (SEQ ID NO: 750) en el extremo carboxi de una componente proteico de la molécula de reconocimiento de células (véase, por ejemplo, PCT/US2015/19684).

D. Enlaces que conectan componentes de las moléculas que reconocen células de la presente invención

[0583] Las regiones de unión que reconocen células individuales, los polipéptidos efectores de la toxina Shiga, las cargas de epítomos de células T CD8+ y/u otros componentes de las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden unirse adecuadamente entre sí a través de uno o más enlazadores. conocido en la técnica y/o descrito en el presente documento (ver, por ejemplo, WO 2014/164693; WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2015/138452; WO 2015/191764). Los subcomponentes polipeptídicos individuales de las regiones de unión, por ejemplo regiones variables de cadena pesada (VH), regiones variables de cadena ligera (VL), regiones CDR y/o ABR, pueden unirse adecuadamente entre sí mediante uno o más enlazadores bien conocidos en la técnica. la técnica y/o descritos en el presente documento. Los componentes proteicos de la presente invención, por ejemplo, regiones de unión de cadenas múltiples, pueden unirse adecuadamente entre sí o con otros componentes polipeptídicos de la presente invención a través de uno o más enlazadores bien conocidos en la técnica. Los componentes peptídicos de la presente invención, por ejemplo, cargas de epítomos de células T CD8+ heterólogas, pueden unirse adecuadamente a otro componente de la presente invención a través de uno o más enlazadores, tales como un enlazador proteico, que es bien conocido en la técnica.

[0584] Los enlazadores adecuados son generalmente aquellos que permiten que cada componente polipeptídico de la presente invención se pliegue con una estructura tridimensional muy similar a los componentes polipeptídicos producidos individualmente sin ningún enlazador u otro componente asociado con él. Los enlazadores adecuados incluyen aminoácidos individuales, péptidos, polipéptidos y enlazadores que carecen de cualquiera de los mencionados anteriormente, tales como diversas cadenas de carbono no proteicas, ya sean ramificadas o cíclicas (véase, por ejemplo, Alley S et al., Bioconjug Chem 19: 759-65 (2008).); Ducry L, Stump B, Bioconjug Chem 21: 5-13 (2010)).

[0585] Los enlazadores adecuados pueden ser proteicos y comprender uno o más aminoácidos, péptidos y/o polipéptidos. Los enlazadores proteicos son adecuados tanto para proteínas de fusión recombinantes como para conjugados unidos químicamente. Un enlazador proteico normalmente tiene de aproximadamente 2 a aproximadamente 50 residuos de aminoácidos, tales como, por ejemplo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 o de aproximadamente 6 a aproximadamente 25 residuos de aminoácidos. La longitud del enlazador seleccionado dependerá de una variedad de factores, tales como, por ejemplo, la propiedad o propiedades deseadas para las cuales se selecciona el enlazador. En determinadas realizaciones, el enlazador es proteico y está unido cerca del extremo de un componente proteico de la presente invención, normalmente dentro de aproximadamente 20 aminoácidos del extremo. Con frecuencia, los enlazadores proteicos adecuados comprenden tramos de glicinas y/o serinas para

flexibilidad combinados con uno o más residuos cargados, tales como, por ejemplo, un residuo(s) de glutamato y/o lisina para solubilidad (véase, por ejemplo, Whitlow M et al., Protein Ingeniería 6: 989-95 (1993)).

[0586] Los enlazadores adecuados pueden ser no proteicos, tales como, por ejemplo, enlazadores químicos.

[0587] Los métodos adecuados para la unión de los componentes de las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden ser mediante cualquier método actualmente conocido en la técnica para lograrlo, siempre que la unión no impida sustancialmente la capacidad de unión de la célula. dirigirse a la región de unión y/o cuando sea apropiado la(s) función(es) efectora(s) de la toxina Shiga deseada(s) medida mediante un ensayo apropiado, incluidos los ensayos descritos en el presente documento. Por ejemplo, se pueden usar enlaces disulfuro y enlaces tioéter para unir dos o más componentes proteicos de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención.

[0588] Para los fines de las moléculas que reconocen células de la presente invención, el orden u orientación específicos no está fijado para los componentes excepto según lo estipulado en las reivindicaciones. La disposición de los polipéptidos efectores de la toxina Shiga, heterólogos, cargas de epítomos de células T CD8+, las regiones de unión y cualquier enlazador opcional, en relación entre sí o con toda la célula objetivo. La molécula no está fijada (ver, por ejemplo, la Figura 1) a menos que se indique específicamente y como se define en las reivindicaciones. En general, los componentes de las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden disponerse en cualquier orden siempre que no se eliminen las actividades deseadas de la región de unión, el polipéptido efector de la toxina Shiga y el epítomo heterólogo de células T CD8+. y siempre que la carga heteróloga del epítomo de células T CD8+ esté situada en el extremo carboxi del polipéptido efector de la toxina Shiga, como se define en las reivindicaciones.

II. Ejemplos de variaciones estructurales específicas de las moléculas que reconocen células de la presente invención

[0589] Las moléculas que reconocen células de la presente invención comprenden un polipéptido efector de la toxina Shiga como se define en las reivindicaciones, una región de unión de reconocimiento de células como se define en las reivindicaciones y una carga de epítomo de células T CD8+ heteróloga que no está incluida. o incluido en la región del fragmento A1 de la toxina Shiga como se define en las reivindicaciones. Se puede crear, en principio, una molécula de reconocimiento de células con la capacidad de suministrar una carga de epítomo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I de una célula diana, uniendo cualquier péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogo a cualquier combinación. de región de unión de reconocimiento de células y polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga siempre que la molécula de reconocimiento de células resultante tenga una capacidad de internalización celular (tal como, por ejemplo, mediante endocitosis) proporcionada por al menos el efector de la toxina Shiga, la fracción de reconocimiento de células, o la combinación estructural de ellos juntos, y siempre que el componente polipeptídico efector de la toxina Shiga o la estructura de la molécula de reconocimiento de la célula en su conjunto, proporcione, una vez dentro de una célula objetivo, suficiente ruta subcelular a un compartimento subcelular competente para la suministro de la Péptido-epítomo de células T a la vía de presentación del MHC de clase I de la célula diana, tal como, por ejemplo, al citosol o al retículo endoplásmico (ER).

[0590] Cada una de las moléculas que reconocen células de la presente invención comprende al menos un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga derivado de al menos una subunidad A de un miembro de la familia de la toxina Shiga, como se define en las reivindicaciones. El polipéptido efector de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende o consiste esencialmente en una subunidad A truncada de la toxina Shiga. Los truncamientos de las subunidades A de la toxina Shiga pueden dar lugar a la eliminación de un epítomo completo y/o de una región o regiones de epítomo, epítomos de células B, epítomos de células T CD4+ y/o sitios de escisión por furina sin afectar al efector de la toxina Shiga. funciones, tales como, por ejemplo, actividad catalítica y citotoxicidad. El fragmento más pequeño de la subunidad A de la toxina Shiga que mostró actividad enzimática completa fue un polipéptido compuesto por los residuos 1-239 de SlT1A (LaPointe P et al., J Biol Chem 280: 23310-18 (2005)). El fragmento más pequeño de la subunidad A de la toxina Shiga que mostró actividad enzimática significativa fue un polipéptido compuesto por los residuos 75-247 de StxA (Al-Jaufy A et al., Infect Immun 62: 956-60 (1994)).

[0591] Aunque los polipéptidos efectores de la toxina Shiga comprendidos dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención pueden comúnmente ser más pequeños que la subunidad A de la toxina Shiga de longitud completa, el polipéptido efector de la toxina Shiga de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede necesitar para mantener la región polipeptídica de la posición de aminoácido 77 a 239 (SLT-1A (SEQ ID NO: 1) o StxA (SEQ ID NO: 2)) o el equivalente en otras subunidades A de miembros de la familia de toxinas Shiga (por ejemplo, 77 a 238 de (SEQ ID NO: 3 y 7-18)). Por ejemplo, en ciertas realizaciones de las moléculas de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada), los polipéptidos efectores de la toxina Shiga derivados de una toxina Shiga pueden comprender o consistir en el polipéptido representado por la secuencia de aminoácidos seleccionada de amino ácidos 75 a 251, 1 a 241, 1 a 251 y 1 a 261 de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-2 y 4-6. De manera similar, los polipéptidos efectores de la toxina Shiga derivados de una toxina Shiga 2 pueden comprender o consistir en el polipéptido representado por la secuencia de aminoácidos seleccionada de los aminoácidos 75 a 250, 1 a 241, 1 a 250 y 1 a 260 de cualquiera de las SEQ Números de identificación: 3 y 7-18.

[0592] Aunque se deriva de un polipéptido de la subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje, para ciertas realizaciones de las moléculas de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada), el polipéptido efector de la toxina Shiga difiere de un polipéptido efector de la toxina Shiga A de origen natural. Subunidad por hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 o más residuos de aminoácidos (pero no más del que retiene en al menos 85%, 90%, 95%, 99% o más identidad de secuencia de aminoácidos).

[0593] La divulgación proporciona además variantes de las moléculas que reconocen células (que no forman parte de la presente invención reivindicada), en las que el polipéptido efector de la toxina Shiga difiere de una subunidad A de la toxina Shiga de origen natural solo o hasta en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 o más residuos de aminoácidos (pero no más de los que retienen al menos el 85%, 90%, 95%, 99% o más de identidad de secuencia de aminoácidos). Por tanto, una molécula de la presente divulgación derivada de una subunidad A de un miembro de la familia de las toxinas Shiga puede comprender adiciones, eliminaciones, truncamientos u otras alteraciones de la secuencia original siempre que al menos el 85%, 90%, 95%, Se mantiene una identidad de secuencia de aminoácidos del 99% o más con respecto a una subunidad A de toxina Shiga de origen natural, tal como, por ejemplo, en la que hay un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxilo de una región derivada del fragmento de toxina A1 de Shiga.

[0594] Por consiguiente, en ciertas realizaciones, el polipéptido efector de la toxina Shiga de una molécula de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada) comprende o consiste esencialmente en secuencias de aminoácidos que tienen al menos 55 %, 60 %, 65 %, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 99,5% o 99,7% de identidad de secuencia global con una subunidad A de toxina Shiga de origen natural (por ejemplo, cualquiera de SEQ ID NO: 1-18), tal como, por ejemplo, en donde hay un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi de una región derivada del fragmento A1 de la toxina Shiga.

[0595] De manera opcional, una versión completa o truncada del polipéptido efector de la toxina Shiga puede estar comprendida dentro de una molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada), en donde la toxina Shiga derivada El polipéptido comprende una o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones, deleciones, inserciones o inversiones) en comparación con una subunidad A de la toxina Shiga de origen natural. En ciertas realizaciones de la presente invención se prefiere que los polipéptidos efectores de la toxina Shiga tengan suficiente identidad de secuencia con una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje para retener la citotoxicidad después de la entrada en una célula, ya sea mediante métodos bien conocidos de transformación de la célula huésped, transfección, infección o inducción, o por internalización mediada por una región de unión de reconocimiento de células unida con el polipéptido efector de la toxina Shiga. La región más crítica de una subunidad A de la toxina Shiga para la actividad enzimática es el sitio activo, que está ubicado alrededor de los residuos de aminoácidos 137/138 a 209/210, dependiendo de la variante, como cualquiera de las SEQ ID NO: 1-18. . Los residuos más críticos para la actividad enzimática y/o citotoxicidad en las subunidades A de la toxina Shiga se han asignado a las siguientes posiciones de residuos: asparagina-75, tirosina-77, glutamato-167, arginina-170 y arginina-176, entre otros (Di R et al., *Toxicon* 57: 525-39 (2011)). El polipéptido efector de la toxina Shiga comprendido dentro de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención mantiene los aminoácidos conservados en las posiciones 77, 167, 170 y 176 en StxA, SLT-1A, o la posición conservada equivalente en otros miembros de la familia de la toxina Shiga que Por lo general, se requieren para una actividad citotóxica potente. La capacidad de una molécula citotóxica de reconocimiento de células de la presente invención para provocar la muerte celular, por ejemplo su citotoxicidad, puede medirse usando uno cualquiera o más de varios ensayos bien conocidos en la técnica.

[0596] Cabe señalar que las moléculas que reconocen células que comprenden polipéptidos efectores de la toxina Shiga con reducciones incluso considerables en la(s) función(es) efectora(s) de la toxina Shiga del enrutamiento subcelular en comparación con los polipéptidos efectores de la toxina Shiga de tipo salvaje todavía pueden ser capaces de administrar sus cargas de epítomos heterólogos de células T CD8+ en la ruta de presentación del MHC de clase I de una célula diana, tal como, por ejemplo, en cantidades suficientes para inducir una respuesta inmune que implique la acoplamiento intercelular de una célula inmune CD8+ y/o para detectar ciertos compartimentos subcelulares. de tipos celulares específicos ya que la presentación uniforme de un único complejo pMHC I es suficiente para el acoplamiento intercelular de una célula presentadora por un CTL para la citólisis (Sykulev Y et al., *Immunity* 4: 565-71 (1996)).

[0597] La molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende un polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende (1) un polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga que tiene un extremo carboxi y (2) un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi del Polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga. El extremo carboxi de un polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga puede ser identificado por el experto usando técnicas conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, usando software de alineación de secuencias de proteínas para identificar (i) un motivo de escisión por furina conservado con un toxina Shiga de origen natural, (ii) un bucle extendido y expuesto en la superficie conservado con una toxina Shiga de origen natural, y/o (iii) un tramo de residuos de aminoácidos que son predominantemente hidrofóbicos (es decir, un "parche" hidrofóbico que puede reconocerse por el sistema ERAD.

[0598] El polipéptido efector de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) (1) puede carecer por completo de cualquier motivo de

escisión por furina en un extremo carboxilo de su fragmento A1 de la toxina Shiga. región y/o (2) comprenden un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi de su fragmento de toxina Shiga A1 región y/o región derivada del extremo carboxi de un fragmento de toxina Shiga A1. Una alteración de un motivo de escisión por furina incluye diversas alteraciones de un residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina, tales como, por ejemplo, una modificación postraducciona, una alteración de uno o más átomos en un grupo funcional de aminoácido., la adición de uno o más átomos a un grupo funcional de aminoácido, la asociación a uno o más restos no proteicos y/o el enlace a un residuo de aminoácido, péptido o polipéptido tal como dando como resultado una estructura proteica ramificada. Por ejemplo, la unión de una carga de epítipo de células T CD8+ heteróloga al extremo carboxi de la región del fragmento A1 de la toxina Shiga de un polipéptido efector de la toxina Shiga de tipo salvaje puede dar como resultado una reducción de la escisión con furina del polipéptido efector de la toxina Shiga como en comparación con una molécula de referencia que carece de la carga del epítipo unido.

[0599] Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga resistentes a la escisión por proteasa se pueden crear a partir de un polipéptido efector de la toxina Shiga y/o un polipéptido de la subunidad A de la toxina Shiga, ya sea de origen natural o no, usando un método descrito en el presente documento, descrito en el documento WO 2015/191764, y/o conocido por el experto, en el que la molécula resultante todavía conserva una o más funciones de la subunidad A de la toxina Shiga.

[0600] Para los fines de la presente divulgación con respecto a un sitio de escisión por furina o motivo de escisión por furina, el término "interrupción" o "interrumpido" se refiere a una alteración del sitio de escisión por furina y/o del sitio de escisión por furina que se produce de forma natural. motivo, tal como, por ejemplo, una mutación, que da como resultado una reducción en la escisión por furina proximal al extremo carboxi de una región del fragmento A1 de la toxina Shiga, o región identificable derivada de la misma, en comparación con la escisión por furina de una región salvaje. Subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje o un polipéptido derivado de una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje que comprende sólo secuencias de polipéptidos de tipo salvaje. Una alteración de un residuo de aminoácido en el motivo de escisión por furina incluye una mutación en el motivo de escisión por furina, tal como, por ejemplo, una deleción, inserción, inversión, sustitución y/o truncamiento carboxi-terminal del motivo de escisión por furina., así como una modificación postraducciona, tal como, por ejemplo, como resultado de glicosilación, albuminación y similares que implican conjugar o unir una molécula al grupo funcional de un residuo de aminoácido. Debido a que el motivo de escisión por furina está compuesto por aproximadamente veinte residuos de aminoácidos, en teoría, las alteraciones, modificaciones, mutaciones, deleciones, inserciones y/o truncamientos que involucran uno o más residuos de aminoácidos de cualquiera de estas veinte posiciones podrían dar como resultado una reducción de la sensibilidad a la escisión por furina (Tian S et al., Sci Rep 2: 261 (2012)).

[0601] Para los fines de la presente divulgación, un "motivo de escisión por furina interrumpido" es un motivo de escisión por furina que comprende una alteración de uno o más residuos de aminoácidos derivados de la región de 20 residuos de aminoácidos que representa un motivo de escisión por furina conservado encontrado en nativo, subunidades A de toxina Shiga en la unión entre las regiones del fragmento A1 de toxina Shiga y del fragmento A2 y posicionadas de manera que la escisión con furina de una subunidad A de toxina Shiga da como resultado la producción de los fragmentos A1 y A2; en el que el motivo de escisión por furina interrumpido exhibe una escisión por furina reducida de una manera experimentalmente reproducible en comparación con una molécula de referencia que comprende una región de fragmento de toxina A1 de Shiga de tipo salvaje fusionada a un polipéptido carboxi-terminal de un tamaño lo suficientemente grande como para monitorear la escisión por furina usando el ensayo apropiado conocido por el experto y/o descrito en el presente documento.

[0602] Ejemplos de tipos de mutaciones que pueden alterar un sitio de escisión por furina y un motivo de escisión por furina son eliminaciones, inserciones, truncamientos, inversiones y/o sustituciones de residuos de aminoácidos, incluidas sustituciones con aminoácidos no estándar y/o no -aminoácidos naturales. Además, los sitios de escisión por furina y los motivos de escisión por furina pueden alterarse mediante mutaciones que comprenden la modificación de un aminoácido mediante la adición de una estructura unida covalentemente que enmascara al menos un aminoácido en el sitio o motivo, tal como, por ejemplo, como resultado de la PEGilación, el acoplamiento de adyuvantes de moléculas pequeñas y/o albuminación específica de sitio.

[0603] Si un motivo de escisión por furina se ha interrumpido por mutación y/o la presencia de residuos de aminoácidos no naturales, ciertos motivos de escisión por furina interrumpidos pueden no ser fácilmente reconocibles como relacionados con cualquier motivo de escisión por furina; sin embargo, el extremo carboxi de la región derivada del fragmento A1 de la toxina Shiga será reconocible y definirá dónde se ubicaría el motivo de escisión por furina si no se alterara. Por ejemplo, un motivo de escisión por furina interrumpido puede comprender menos de los veinte residuos de aminoácidos del motivo de escisión por furina debido a un truncamiento del terminal carboxi en comparación con una subunidad A de la toxina Shiga y/o un fragmento A1 de la toxina Shiga.

[0604] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprende (1) un polipéptido del fragmento A1 de la toxina Shiga que tiene un extremo carboxi y (2) un motivo de escisión por furina interrumpido en el extremo carboxi. - extremo de la región polipeptídica del fragmento A1 de la toxina Shiga; en el que la molécula de reconocimiento de células es más resistente a la escisión por furina en comparación con una molécula de referencia, tal como, por ejemplo, una molécula relacionada que

comprende sólo uno o más componentes polipeptídicos de la toxina Shiga de tipo salvaje o sólo un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga (s.) que tiene un motivo de escisión por furina conservado entre los fragmentos A1 y A2. Por ejemplo, se puede determinar una reducción en la escisión por furina de una molécula en comparación con una molécula de referencia usando un ensayo de escisión por furina in vitro descrito en el documento WO 2015/191764, realizado usando las mismas condiciones, y a continuación realizando una cuantificación de la densidad de la banda. de cualquier fragmento resultante de la escisión para medir cuantitativamente el cambio en la escisión por furina.

[0605] En general, la sensibilidad a la escisión por proteasa de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención se prueba comparándola con la misma molécula que tiene su(s) componente(s) polipeptídico(s) efector de toxina Shiga, resistente a la escisión por furina, reemplazados por un componente salvaje. tipo, componente(s) del polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende un fragmento A1 de la toxina Shiga. En ciertas realizaciones, las moléculas de la presente invención que comprenden un motivo de escisión por furina interrumpido exhiben una reducción en la escisión por furina in vitro del 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o más en comparación con una molécula de referencia que comprende un fragmento de toxina A1 de Shiga de tipo salvaje fusionado en su extremo carboxilo a un péptido o polipéptido.

[0606] En las moléculas que reconocen células de la presente invención, el polipéptido efector de la toxina Shiga comprende una alteración en uno o más aminoácidos derivados del bucle conservado, altamente accesible y sensible a la escisión por proteasa de las subunidades A de la toxina Shiga. El polipéptido efector de la toxina Shiga comprende un motivo de escisión por furina interrumpido que comprende una mutación en el bucle sensible a la proteasa, expuesto en la superficie, conservado entre las subunidades A de la toxina Shiga. La mutación reduce la accesibilidad a la superficie de ciertos residuos de aminoácidos dentro del bucle, de modo que se reduce la sensibilidad a la escisión por furina.

[0607] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido de un polipéptido efector de la toxina Shiga de una molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una alteración en términos de existencia, posición o grupo funcional de uno o ambos residuos de aminoácidos de consenso P1 y P4, tales como, por ejemplo, los residuos de aminoácidos en las posiciones 1 y 4 del motivo mínimo de escisión por furina R/YxxR. Por ejemplo, mutar uno o ambos de los dos residuos de arginina en el sitio de consenso mínimo de furina RxxR a alanina alterará un motivo de escisión por furina reduciendo o aboliendo la escisión por furina en ese sitio. Por ejemplo, la mutación de uno o ambos residuos de arginina en histidina provocará una reducción en la escisión por furina. De manera similar, las sustituciones de residuos de aminoácidos de uno o ambos residuos de arginina en el motivo mínimo de escisión por furina RxxR por cualquier residuo de aminoácido no conservador conocido por el experto reducirán la sensibilidad del motivo a la escisión por furina. En particular, las sustituciones de residuos de aminoácidos de arginina por cualquier residuo de aminoácido no básico que carezca de carga positiva, tales como, por ejemplo, A, G, P, S, T, D, E, Q, N, C, I, L, M, V, F, W e Y darán como resultado un motivo de escisión por furina interrumpido.

[0608] En ciertas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido de un polipéptido efector de toxina Shiga de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) comprende una alteración en el espaciado entre los residuos de aminoácidos de consenso P4 y P1 en términos de que el número de residuos de aminoácidos intervinientes sea distinto de dos y, por tanto, cambiar P4 y/o P1 a una posición diferente y eliminar las designaciones P4 y/o P1. Por ejemplo, las eliminaciones dentro del motivo de escisión por furina del sitio mínimo de escisión por furina o del motivo central de escisión por furina reducirán la sensibilidad a la escisión por furina del motivo de escisión por furina.

[0609] En las moléculas que reconocen células de la presente invención, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una o más sustituciones de residuos de aminoácidos, en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. El motivo de escisión por furina interrumpido comprende una o más sustituciones de residuos de aminoácidos dentro del sitio de escisión por furina mínimo R/YxxR. El residuo de aminoácido R248 situado de forma nativa está sustituido con un residuo de aminoácido no cargado positivamente y R251 está sustituido con un residuo de aminoácido no cargado positivamente.

[0610] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende un sitio de escisión por furina mínimo, no interrumpido R/YxxR pero en su lugar comprende una región flanqueante alterada, tal como, por ejemplo, sustituciones de residuos de aminoácidos en uno o más residuos de aminoácidos en las regiones flanqueantes del motivo de escisión por furina en posición nativa, por ejemplo, 241-247 y/o 252-259. En ciertas realizaciones adicionales de la divulgación, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una sustitución de uno o más de los residuos de aminoácidos ubicados en la región P1'-P6' del motivo de escisión por furina; mutar P1' a un aminoácido voluminoso, tal como, por ejemplo, R, W, Y, F y H; y mutar P2' a un resto de aminoácido polar e hidrófilo; y sustituir uno o más de los residuos de aminoácidos ubicados en la región P1'-P6' del motivo de escisión por furina con uno o más residuos de aminoácidos voluminosos e hidrófobos.

[0611] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una eliminación, inserción, inversión y/o sustitución de al menos un amino residuo ácido dentro del motivo de escisión por furina en relación con una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje. En determinadas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una alteración de la secuencia de aminoácidos situada de forma nativa en 248-251 de la subunidad A de la toxina Shiga (SEQ ID NO: 1-2 y 4-6), en 247-250. de la subunidad A de la toxina 2 similar a Shiga (SEQ ID NO: 3 y 7-18), o en la posición equivalente en un polipéptido efector de toxina Shiga conservado y/o una secuencia de polipéptido efector de toxina Shiga no nativa. En determinadas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una alteración que comprende una mutación, tal como, por ejemplo, una sustitución de aminoácido por un aminoácido no estándar o un aminoácido con una cadena lateral modificada químicamente. En ciertas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una alteración que comprende una eliminación de al menos un aminoácido dentro del motivo de escisión por furina. En determinadas realizaciones adicionales, el motivo de escisión por furina interrumpido comprende la eliminación de nueve, diez, once o más residuos de aminoácidos carboxi terminales dentro del motivo de escisión por furina. En estas realizaciones, el motivo de escisión por furina interrumpido no comprenderá un sitio de escisión por furina o un motivo de escisión por furina mínimo. En otras palabras, ciertas realizaciones carecen de un sitio de escisión por furina en el extremo carboxi de la región del fragmento A1.

[0612] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una eliminación de residuos de aminoácidos y una sustitución de residuos de aminoácidos, así como un grupo carboxi. -truncamiento terminal en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje. En ciertas realizaciones adicionales descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una o más eliminaciones y sustituciones de residuos de aminoácidos dentro del sitio de escisión por furina mínimo R/YxxR.

[0613] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende tanto una sustitución de aminoácidos dentro del sitio mínimo de escisión por furina R/YxxR como un truncamiento carboxi-terminal en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, tal como, por ejemplo, para polipéptidos efectores de toxina Shiga derivados de StxA y SLT-1A, truncamientos que terminan en la posición nativa del aminoácido 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 2 77, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, o mayor y que comprende el residuo de aminoácido posicionado de forma nativa R248 y/o R251 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no positivo. residuo de aminoácido cargado, cuando corresponda; y para los polipéptidos efectores de la toxina Shiga derivados de SLT-2A, truncamientos que terminan en la posición nativa del aminoácido 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263., 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 2 88, 289, 290, 291 o mayor y que comprende el residuo de aminoácido posicionado de forma nativa Y247 y/o R250 sustituido con cualquier residuo de aminoácido no cargado positivamente, cuando corresponda.

[0614] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende tanto una eliminación de residuos de aminoácidos como una sustitución de residuos de aminoácidos en comparación con una Subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje. En ciertas realizaciones adicionales descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una o más eliminaciones y sustituciones de residuos de aminoácidos dentro del sitio de escisión por furina mínimo R/YxxR.

[0615] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no es parte de la presente invención reivindicada), el motivo de escisión por furina interrumpido comprende una eliminación de un residuo de aminoácido, una inserción de un residuo de aminoácido, un residuo de aminoácido sustitución y/o un truncamiento carboxi-terminal en comparación con una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje.

[0616] Tal como se define en las reivindicaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ que no está incluida ni incluida en el componente polipeptídico efector de la toxina Shiga. En determinadas realizaciones, la carga de epítipo de células T CD8+ es un epítipo antigénico y/o inmunogénico en un ser humano. En determinadas realizaciones, el componente de carga del epítipo de células T CD8+ de las moléculas que reconocen células de la presente invención comprende o consiste esencialmente en un péptido de 8-11 aminoácidos de longitud derivado de una molécula de un patógeno microbiano que infecta a humanos, tal como, por ejemplo, un antígeno de un virus que infecta a los humanos. En determinadas realizaciones adicionales, el componente de carga del epítipo de células T CD8+ de las moléculas que reconocen células de la presente invención comprende o consiste esencialmente en cualquiera de los péptidos mostrados en las SEQ ID NO: 19-27, como se enumera en las reivindicaciones.

[0617] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, la carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ está unida a la molécula de reconocimiento de células mediante un enlace tiol, tal como,

por ejemplo, un enlace disulfuro. En determinadas realizaciones adicionales, el enlace tiol es un enlace disulfuro de cisteína a cisteína.

[0618] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, la carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ está unida a la molécula de reconocimiento de células a través de un enlace disulfuro que involucra el grupo funcional de un residuo de cisteína de una toxina Shiga. componente polipeptídico efector de la molécula de reconocimiento de células, tal como, por ejemplo, C241 de SLT-2A (SEQ ID NO: 3) o 242 de StxA (SEQ ID NO: 2) o SLT-1A (SEQ ID NO: 1). En ciertas realizaciones adicionales, el residuo de cisteína está colocado en el extremo carboxi del extremo carboxi de la región del fragmento A1 de la toxina Shiga del polipéptido efector de la toxina Shiga (por ejemplo, el residuo de cisteína C260 de SLT-2A (SEQ ID NO: 3) o C261 de StxA (SEQ ID NO: 2) o SLT-1A (SEQ ID NO: 1)).

[0619] Las moléculas que reconocen células de la presente invención comprenden al menos una región de unión de reconocimiento de células, como se define en las reivindicaciones. Entre ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, la región de unión se deriva de un polipéptido de tipo inmunoglobulina seleccionado para unión específica y de alta afinidad a un antígeno de superficie en la superficie celular de una célula cancerosa o tumoral, donde la el antígeno tiene una expresión restringida a células cancerosas o tumorales (véase Glokler J et al., *Molecules* 15: 2478-90 (2010); Liu Y et al., *Lab Chip* 9: 1033-6 (2009). De acuerdo con otras realizaciones, la región de unión se selecciona para una unión específica y de alta afinidad a un antígeno de superficie en la superficie celular de una célula cancerosa, donde el antígeno se sobreexpresa o se expresa preferentemente por las células cancerosas en comparación con las células no cancerosas. Las biomoléculas incluyen, entre otras, las siguientes dianas enumeradas asociadas con cánceres y/o tipos de células inmunitarias específicas.

[0620] El experto conoce muchas regiones de unión de tipo inmunoglobulina que se unen con alta afinidad a epítopos extracelulares asociados con células cancerosas, tales como regiones de unión que se unen a cualquiera de las siguientes biomoléculas diana: anexina A1, antígeno de melanoma B3, B4, antígeno de melanoma, CD2, CD3, CD4, CD19, CD20 (proteína del antígeno de linfocitos B CD20), CD22, CD25 (receptor de interleucina-2 IL2R), CD30 (TNFRSF8), CD37, CD38 (ADP ribosa hidrolasa cíclica), CD40, CD44 (receptor de hialuronano), ITGAV (CD51), CD56, CD66, CD70, CD71 (receptor de transferrina), CD73, CD74 (cadena invariante asociada a antígenos HLA-DR), CD79, CD98, endoglina (END, CD 105), CD106 (VCAM-1), CD138, receptor de quimiocina tipo 4 (CD44), CD184, CD200, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (CD221), mucina1 (MUC1, CD227, CA6, CanAg), molécula de adhesión de células basales (B-CAM, CD239), CD248 (endosialina, TEM1), receptor del factor de necrosis tumoral 10b (TNFRSF10B, CD262), receptor del factor de necrosis tumoral 13B (TNFRSF13B, TAC1, CD276), receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (KDR, CD309), molécula de adhesión de células epiteliales (EpCAM, CD326), receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2, Neu, ErbB2, CD340), antígeno canceroso 15-3 (CA15-3), antígeno canceroso 19-9 (CA 19-9), cáncer antígeno 125 (CA125, MUC16), CA242, moléculas de adhesión celular relacionadas con el antígeno carcinoembrionario (p. ej., CEACAM3 (CD66d) y CEACAM5), proteína del antígeno carcinoembrionario (CEA), proteína 4 similar al transportador de colina (SLC44A4), proteoglicano 4 de sulfato de condroitina (CSP4), MCSP, NG2, CTLA4, proteínas similares al delta (por ejemplo, DLL3, DLL4), proteínas ectonucleótidos pirofosfatasa/fosfodiesterasa (por ejemplo, ENPP3), receptores de endotelina (ETBR), receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, ErbB1), receptores de folato (FOLR, por ejemplo, FR α), G-28, gangliósido GD2, gangliósido GD3, HLA-Dr10, HLA-DRB, receptor 1 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER1), HER3/ErbB-3, receptor 2 de efrina tipo B (EphB2), célula epitelial molécula de adhesión (EpCAM), proteína de activación de fibroblastos (FAP/seprasa), guanilil ciclasa c (GCC), receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1R), receptor de interleucina 2 (IL-2R), receptor de interleucina 6 (IL-6R), integrinas alfa-V beta-3 ($\alpha_v \beta_3$), integrinas alfa-V beta-5 ($\alpha_v \beta_5$), integrinas alfa-5 beta-1 ($\alpha_5 \beta_1$), L6, transportador de zinc (LIV-1), MPG, proteína del antígeno 1 asociado al melanoma (MAGE-1), antígeno 3 asociado al melanoma (MAGE-3), mesotelina (MSLN), metalorreductasa STEAP1, MPG, MS4A, NaPi2b, nectinas (p. ej., nectina-4), p21, p97, receptor tipo 4 del virus de la polio (PVRL4), receptores activados por proteasa (como PAR1), proteínas del antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), proteínas tipo SLIT y NTRK. (por ejemplo, SLITRK6), antígeno de Thomas-Friedenreich, glicoproteína transmembrana (GPNMB), glicoproteínas del trofoblasto (TPGB, 5T4, WAIF1) y transductores de señales de calcio asociados a tumores (TACSTD, por ejemplo, Trop-2, EGP-1, etc.) (ver por ejemplo, Lui B et al., *Cancer Res* 64: 704-10 (2004); Novellino L et al., *Cancer Immunol Immunother* 54: 187-207 (2005); Bagley R et al., *Int J Oncol* 34: 619-27 (2009); Gerber H et al., *mAbs* 1: 247-53 (2009); Beck A et al., *NatRevImmunol* 10: 345-52 (2010); Andersen Jet al., *JBiol Chem* 287: 22927-37 (2012); Nolan-Stevaux O et al., *PLoS One* 7: e50920 (2012); Rust Set al., *Mol Cancer* 12: 11 (2013)). Esta lista de biomoléculas diana pretende ser no limitante. El experto apreciará que cualquier biomolécula diana deseada asociada con una célula cancerosa u otro tipo de célula deseada puede usarse para diseñar o seleccionar una región de unión que puede ser adecuada para usar como componente de una molécula de diana celular de la presente invención.

[0621] Ejemplos de otras biomoléculas diana que están fuertemente asociadas con células cancerosas y están unidas con alta afinidad por una región de unión de tipo inmunoglobulina conocida incluyen proteínas BAGE (antígenos de melanoma B), moléculas de adhesión de células basales (BCAM) o glicoproteínas del grupo sanguíneo luterano), antígeno de tumor de vejiga (BTA), SAIL (C16orf54), antígeno de cáncer de testículo NY-ESO-1, proteínas LAGE del antígeno de cáncer de testículo, CD19 (proteína del antígeno de linfocitos B CD19), CD21 (receptor del complemento-2 o complemento 3d receptor), CD26 (dipeptidil peptidasa-4, DPP4) o proteína complejante de adenosina desaminasa

2), CD33 (lectina-3 de tipo inmunoglobulina de unión al ácido siálico), CD52 (antígeno CAMPATH-1), CD56, CS1 (familia SLAM número 7 o SLAMF7), proteína del antígeno A33 de la superficie celular (gpA33), proteínas del antígeno del virus de Epstein-Barr, proteínas GAGE/PAGE (antígenos de testículo/cáncer asociados al melanoma), receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGFR o c-Met), proteínas MAGE, antígeno del melanoma reconocido por la proteína de las células T 1 (MART-1/MelanA, MART1), mucinas, proteínas del antígeno de melanoma expresado preferentemente (PRAME), proteína del antígeno prostático específico (PSA), proteína del antígeno de células madre de la próstata (PSCA), receptor de glicosilación avanzada Productos finales (RAGE), glicoproteína 72 asociada a tumores (TAG-72), receptores del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y antígeno del tumor de Wilms.

[0622] Ejemplos de otras biomoléculas diana que están fuertemente asociadas con células cancerosas son anhidrasa carbónica IX (CA9/CAIX), proteínas claudina (CLDN3, CLDN4), receptor 3 de efrina tipo A (EphA3), proteínas de unión a folato (FBP), gangliósido GM2, receptores del factor de crecimiento similar a la insulina, integrinas (como CD11a-c), activador del receptor del factor nuclear kappa B (RANK), receptor tirosina-proteína quinasa erbB-3, receptor del factor de necrosis tumoral 10A (TRAIL-R1/DR4), receptor del factor de necrosis tumoral 10B (TRAIL-R2), tenascina C y CD64 (FcyRI) (véase Hough C et al., *Cancer Res* 60: 6281-7 (2000); Thepen T et al., *Nat Biotechnol* 18: 48-51 (2000); Pastan I et al., *Nat Rev Cancer* 6: 559-65 (2006); Pastan, *Annu Rev Med* 58: 221-37 (2007); Fitzgerald D et al., *Cancer Res* 71: 6300-9 (2011); Scott A et al., *Cancer Immun* 12: 14-22 (2012)). Esta lista de biomoléculas diana pretende ser no limitante.

[0623] Además, existen muchos otros ejemplos de biomoléculas diana contempladas, tales como, por ejemplo, metaloproteinasas ADAM (por ejemplo, ADAM-9, ADAM-10, ADAM-12, ADAM-15, ADAM-17), ADP-ribosiltransferasas (ART1, ART4), antígeno F4/80, antígenos del estroma de la médula ósea (BST1, BST2), proteínas del oncogén c-abl de la región del grupo de punto de ruptura (BCR-ABL), C3aR (receptores del componente 3a del complemento), CD7, CD13, CD14, CD15 (Lewis X o antígeno embrionario específico de etapa 1), CD23 (FC épsilon RII), CD45 (receptor de proteína tirosina fosfatasa tipo C), CD49d, CD53, CD54 (molécula de adhesión intercelular 1), CD63 (tetraspanina), CD69, CD80, CD86, CD88 (receptor 1 del componente 5a del complemento), CD115 (receptor 1 del factor estimulante de colonias), IL-1R (receptor de interleucina-1), CD123 (receptor de interleucina-3), CD129 (receptor de interleucina 9), CD183 (receptor de quimiocina receptor CXCR3), CD191 (CCR1), CD193 (CCR3), CD195 (receptor de quimiocinas CCR5), CD203c, CD225 (proteína transmembrana 1 inducida por interferón), CD244 (receptor de células asesinas naturales 2B4), CD282 (receptor tipo Toll 2), CD284 (receptor tipo Toll 4), CD294 (GPR44), CD305 (receptor tipo inmunoglobulina 1 asociado a leucocitos), receptor 2 de efrina tipo A (EphA2), FcεRIa, galectina-9, antígeno alfa-fetoproteína 17-A1 proteína, aspartil (asparaginil) beta-hidroxilasa humana (HAAH), transcripción similar a inmunoglobulina ILT-3, lisofosfatidilglicerol aciltransferasa 1 (LPGAT1/IAA0205), proteínas de membrana asociadas a lisosomas (LAMP, como CD107), proteína de melanocitos PMEL (gp100), proteína 14 relacionada con mieloide (mrp-14), ligandos NKG2D (p. ej., MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, proteínas de unión a UL-16, H-60, Rae-1 y sus homólogos), proteína receptora de tirosina quinasa erbB-3, proteínas SART, receptores eliminadores (como CD64 y CD68), Siglecs (lectinas de tipo inmunoglobulina que se unen al ácido siálico), sindecanos (como SDC1 o CD 138), tirosinasa, proteína 1 relacionada con tirosinasa (TRP-1), proteína 2 relacionada con tirosinasa (TRP-2), antígeno asociado a tirosinasa (TAA), APO-3, BCMA, CD2, CD3, CD4, CD8, CD18, CD27, CD28, CD29, CD41, CD49, CD90, CD95. (Fas), CD103, CD104, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD152 (CTLA-4), receptores de quimiocinas, proteínas del complemento, receptores de citocinas, proteínas de histocompatibilidad, ICOS, interferón alfa, interferón beta, c -myc, osteoprotegerina, PD-1, RANK, TACI, miembro de la superfamilia del receptor de TNF (TNF-R1, TNFR-2), Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3 y TRAIL-R4 (ver Scott A et al. al., *Cancer Immunity* 12: 14 (2012); Cheever M et al., *Clin Cancer Res* 15: 5323-37 (2009)), para biomoléculas diana y tenga en cuenta que las biomoléculas diana descritas en el mismo son ejemplos no limitantes).

[0624] En ciertas realizaciones, la región de unión comprende o consiste esencialmente en una región de unión de tipo inmunoglobulina capaz de unirse específicamente con alta afinidad a la superficie celular de un tipo de célula del sistema inmunológico. Por ejemplo, se conocen dominios de unión de tipo inmunoglobulina que se unen a factores de la superficie de células inmunes, tales como, por ejemplo, CD1, CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD9, CD10, CD11, CD12, CD13, CD14., CD15, CD16, CD17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD40, CD41., CD56, CD61, CD62, CD66, CD95, CD117, CD123, CD235, CD146, CD326, receptor de interleucina-1 (IL-1R), receptor de interleucina-2 (IL-2R), activador del receptor del factor nuclear kappa B (RANKL), proteína asociada a SLAM (SAP) y TNFSF18 (ligando 18 del factor de necrosis tumoral o GITRL).

[0625] Para ejemplos adicionales de biomoléculas diana y regiones de unión previstas para su uso en las moléculas de la presente invención, consulte los documentos WO 2005/92917, WO 2007/033497, US2009/156417, JP4339511, EP1727827, DE602004027168, EP1945660, JP4934761, EP2228383, US2013/196928, WO 2014/164680, WO 2014/164693, WO 2015/138435, WO 2015/138452, WO 2015/113005, WO 2015/113007, WO 2015/191764, US2015/259428, 62/168.758, 62/168.759, 62/168.760, 62/168.761, 62/168.762, 62/168.763 y PCT/US2016/016580. Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención son proteínas de fusión citotóxicas que reconocen células. Ciertas realizaciones adicionales son las moléculas que reconocen células que comprenden o consisten en uno de los polipéptidos mostrados en las SEQ ID NO: 30; 39-245; o 246, 247, 248, 249, 250 o 251, como se define en las reivindicaciones. Ciertas realizaciones adicionales son las moléculas que reconocen células que comprenden o consisten en uno de los polipéptidos mostrados en las SEQ ID NO: 389-404, 407, 420-421,

425-429, 459-473 y 656, como se enumera en las reivindicaciones; o el polipéptido de cualquiera de las SEQ ID NO: 389-404, 407 y 656 que comprende además un residuo de metionina amino-terminal.

[0627] En ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es una proteína de fusión, tal como, por ejemplo, inmunotoxinas o fusión ligando-toxina. Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) son proteínas de fusión que reconocen células, de citotoxicidad reducida o no citotóxicas. Ciertas moléculas de la divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) son moléculas que reconocen células que comprenden o consisten esencialmente en uno de los polipéptidos mostrados en las SEQ ID NO: 252-255 y 288-748 que además comprende uno o más sustituciones de aminoácidos en el componente(s) del polipéptido efector de la toxina Shiga que altera el residuo posicionado de forma nativa seleccionado del grupo que consiste en: A231E, N75A, Y77S, Y114S, E167D, R170A, R176K y/o W203A en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, o SEQ ID NO: 3, o el residuo de aminoácido equivalente en una subunidad A de la toxina Shiga. Ciertas moléculas adicionales de la divulgación son las moléculas que reconocen células que comprenden o consisten esencialmente en uno de los polipéptidos mostrados en las SEQ ID NO: 258, 260, 268, 270 y 278.

[0628] Para alterar la vida media de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención después de la administración a un cordado, una(s) molécula(s) de polietilenglicol, una(s) región(es) Fc de inmunoglobulina, un dominio constante de inmunoglobulina, una región Fc inactivada (s) y/o un epítipo(s) de unión al receptor de recuperación pueden incorporarse a la molécula usando técnicas estándar conocidas por el experto (véanse, por ejemplo, los documentos US 5.739.277; US 7.083.784; US 7.348.004; US2008/422112; WO2010/033279; WO2013/012733; Estados Unidos 9.790.268).

[0629] En ciertas realizaciones de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, dos o más regiones de unión, cada una capaz de unirse a una parte extracelular de la misma biomolécula diana, se asocian con un polipéptido efector de la toxina Shiga para producir polipéptidos efectores de toxina Shiga. moléculas que reconocen células de la presente invención.

[0630] En ciertas realizaciones, las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención comprenden 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 22 regiones de unión individuales.

[0631] Las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención pueden comprender diversas estructuras multivalentes. Por ejemplo, se pueden crear estructuras multivalentes usando interacciones covalentes y/o no covalentes para asociar varios componentes para formar una molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención. En determinadas realizaciones, las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención son complejos multiméricos de dos o más subunidades proteicas, tales como, por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros, diacuerpos, tricuerpos, tetracuerpos, etc.

[0632] En ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención comprende dos o más regiones de unión porque dos o más componentes de la molécula multivalente de reconocimiento de células están unidos o conjugados químicamente entre sí. Por ejemplo, se pueden usar enlazadores químicos para conjugar dos o más proteínas de unión a objetivos para formar una molécula multivalente de reconocimiento de células (véase, por ejemplo, Wolff E et al., Cancer Res 53: 2560-5 (1993); Ghetie Met al., Proc Natl Acad Sci USA 94: 7509-14 (1997); Ghetie M et al., Blood 97: 1392-8 (2001)).

[0633] Ciertas realizaciones de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención comprenden una estructura multimérica que comprende dos o más moléculas componentes, que pueden ser idénticas o no idénticas. Como se usa en el presente documento, la nomenclatura $(X)_n$ se refiere a una molécula que comprende o consiste en un número entero (n) de copias de un componente (X). Por ejemplo, una proteína dimérica que comprende dos subunidades polipeptídicas de unión a diana, monovalentes e idénticas, puede denominarse homodímero o (monómero de unión a diana)₂. Otro ejemplo es una mezcla de proteínas multivalentes, comprendiendo cada proteína tres o más subunidades polipeptídicas "X" idénticas, que se denomina en el presente documento $(X)_{2+n}$, donde "n" se refiere a un número entero positivo y el valor de "2 +n" representa el número de regiones de unión por proteína de las moléculas de proteína presentes, describiendo así una pluralidad de diferentes especies de proteínas multivalentes presentes en una única composición proteica.

[0634] Ciertas realizaciones de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención son multiméricas y están compuestas por dos o más moléculas de unión a diana, tales como, por ejemplo, homodímeros, homotrímeros y homotetrámeros, y similares. Por ejemplo, se pueden combinar dos o más polipéptidos monovalentes de unión a diana para formar moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención.

[0635] En ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención comprende dos o más componentes, comprendiendo cada uno de ellos al menos una de las regiones de unión de la molécula multivalente de reconocimiento de células, debido a una asociación intermolecular no covalente.) resultante del intercambio de dominio entre dos o más componentes que da como resultado una molécula multivalente de reconocimiento de células con una estructura multimérica (ver, por ejemplo, la Figura 1B). Por ejemplo, el intercambio

de dominios proteicos entre dominios de inmunoglobulinas puede diseñarse y optimizarse como un mecanismo para producir estructuras multiméricas precisas (véase, por ejemplo, Holliger P et al., Proc Natl Acad Sci USA 90: 6444-8 (1993); Arndt K et al., Bioquímica 37: 12918-26 (1998)).

5 [0636] El experto puede diseñar moléculas que reconocen células multiméricas y multivalentes de la presente invención usando diversas interacciones polipeptídicas basadas en scFv, tales como, por ejemplo, complejos
 10 diméricos, triméricos, tetraméricos basados en scFv, etc. El enlazador en el scFv puede afectar el ensamblaje espontáneo de estructuras multivalentes, multiméricas y de base no covalente. Generalmente, los enlazadores de
 15 doce aminoácidos o menos, incluida la ausencia de cualquier enlazador, promueven la multimerización de polipéptidos o proteínas que comprenden scFv en especies de mayor peso molecular favoreciendo el intercambio de dominios
 20 intermoleculares sobre el emparejamiento de dominios intracadena (ver, por ejemplo, Huston J et al., Methods Enzymol 203: 46-88 (1991); Holliger P et al., Proc Natl Acad Sci USA 90: 6444-8 (1993); Stemmer W et al., Biotechniques 14: 256-65 (1993); Whitlow M et al., Protein Eng 6: 989-95 (1993); Desplancq D et al., Protein Eng 7: 1027-33 (1994); Whitlow M et al., Protein Eng 7: 1017-26 (1994); Alfthan K et al., Protein Eng 8: 725-31 (1995); Iliades P et al., FEBS Lett 409: 437-41 (1997); Kortt A et al., Biomol Eng 18: 95-108 (2001); Todorovska A et al., J Immunol Methods 248: 47-66 (2001); Tomlinson I, Holliger P et al., Methods Enzymol 326: 461-79 (2001); Dolezal O et al., Protein Eng 16: 47-56 (2003)). Sin embargo, los scFv sin ningún enlazador o con un enlazador con una longitud de ejemplo de 15 residuos de aminoácidos pueden multimerizarse (Whitlow M et al., Protein Eng 6: 989-95 (1993); Desplancq D et al., Protein Eng 7: 1027-33 (1994); Whitlow M et al., Protein Eng 7, 1017-26 (1994); Alfthan K et al., Protein Eng 8: 725-31 (1995)). El experto puede identificar la(s) estructura(s) multimérica(s) creada(s) y/o purificada(s) usando técnicas conocidas en la técnica y/o descritas en el presente documento.

[0637] Además, se pueden usar estructuras diseñadas con enlaces covalentes adicionales para estabilizar estructuras multiméricas que se ensamblan espontáneamente (véase, por ejemplo, Glockshuber R et al., Biochemistry 29: 1362-7 (1990)). Por ejemplo, la introducción de residuos de cisteína en ubicaciones específicas se puede usar para crear estructuras estabilizadas con disulfuro como diacuerpos Cys, multímeros scFv', multímeros V_HH, multímeros V_{NAR} y multímeros IgNAR tales como, por ejemplo, añadiendo lo siguiente residuos de aminoácidos: GGGGC (SEQ ID NO: 799) y SGGGGC (SEQ ID NO: 800) (Tai M et al., Biochemistry 29: 8024-30 (1990); Caron P et al., J Exp Med 176: 1191-5 (1992); Shopes B, J Immunol 148: 2918-22 (1992); Adams G et al., Cancer Res 53: 4026-34 (1993); McCartney J et al., Protein Eng 18: 301-14 (1994); Perisic O et al., Structure 2: 1217-26 (1994); George A et al., Proc Natl Acad Sci USA 92: 8358-62 (1995); Tai M et al., Cancer Res (Suppl.) 55: 5983-9 (1995); Olafsen T et al., Protein Eng Des Sel 17: 21-7 (2004)). Por lo tanto, el trabajador experto puede crear o estabilizar moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención usando puente(s) disulfuro y/o añadiendo o eliminando residuo(s) de cisteína en ciertas posiciones para controlar la(s) posición(es) de ciertos puentes disulfuro. .

35 [0638] En ciertas realizaciones, la estructura multivalente de una molécula de unión a diana de la presente invención comprende dos o más dominios de inmunoglobulina que se unen a una parte extracelular de la misma biomolécula diana. En determinadas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención puede comprender o consistir en una única cadena polipeptídica continua. Por ejemplo, los scFv bivalentes de cadena
 40 única, a veces denominados scFv en tándem (taFv), diacuerpos de cadena única (scDbs) y diacuerpos en tándem (tanDbs o Tandabs), representan proteínas de unión multivalentes que se crean a partir de un único polipéptido continuo (véase, por ejemplo, Mack M et al., Proc Natl Acad Sci USA 92: 7021-5 (1995); Kipriyanov S et al., J Mol Biol 293: 41-56 (1999); Cochlovius, B et al., Cancer Res 60: 4336-41 (2000); Völkel T et al., Protein Eng 14: 815-23 (2001); Jendreyko Net al., J Biol Chem 278: 47812-9 (2003); Kipriyanov S et al., J Mol Biol 330: 99-111 (2003); Miller K et al., J Immunol 170: 4854-61 (2003); Meng R et al., Clin Cancer Res 10: 1274-81 (2004); Schlereth B et al., Cancer Res 65: 2882-9 (2005); Huang T, Morrison S, J Pharmacol Exp Ther 316: 983-91 (2006); Liu X et al., Int Immunopharmacol 6: 791-9 (2006); Shen J et al., J Biol Chem 281: 10706-14 (2006); Shen J et al., J Immunol Methods 318: 65-74 (2007); Wu C et al., Nat Biotech 25: 1290-7 (2007); Li B et al., Cancer Res 68: 2400-8 (2008)).

50 [0639] En ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención comprende tanto un enlazador(es) entre dos o más regiones de unión como uno o más enlaces disulfuro entre componentes de las regiones de unión, ya sean proximales o distales a el enlazador, tal como un enlace disulfuro entre dos regiones de inmunoglobulina que requiere una asociación de intercambio de dominio de inmunoglobulina entre esas dos regiones de inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Glockshuber R et al., Biochemistry. 29: 1362-7 (1990)).

[0640] Alternativamente, se pueden unir dos o más cadenas polipeptídicas usando dominios peptídicos y/o polipeptídicos que se autoasocian o multimerizan entre sí (véase, por ejemplo, el documento US 6.329.507; Wang L et al., Protein Eng Des Sel 26: 417- 23 (2013)). Por ejemplo, la adición de dominios de multimerización carboxi-
 60 terminales se ha utilizado para construir proteínas multivalentes que comprenden dominios de inmunoglobulina, tales como, por ejemplo, scFv, dominios VH autónomos, VHHS, V_{NAR} e IgNAR. Ejemplos de dominios autoasociados conocidos por el experto incluyen dominios constantes de inmunoglobulina (tales como botones en orificios, dirección electrostática e intercambio de cadenas de IgG/IgA), cadenas Fab de inmunoglobulina (por ejemplo, (Fab-scFv)₂ y (Fab' scFv)₂), dominios Fc de inmunoglobulina (p. ej. (scDiabody-Fc)₂, (scFv-Fc)₂ y scFv-Fc-scFv), dominios CHX de inmunoglobulina, regiones CH1-3 de inmunoglobulina, dominios CH3 de inmunoglobulina (p. ej. (scDiabody-CH3)₂, minicuerpo LD y minicuerpo Flex), dominios CH4 de inmunoglobulina, dominios CHCL, haces de hélices anfífilas (p.

ej., scFv-HLX), dominios de hélice-vuelta-hélice (p. ej., scFv-dHLx), estructuras en espiral que incluyen cremalleras de leucina y oligoméricos de cartílago. proteínas de matriz (p. ej., scZIP), dominios de dimerización y acoplamiento (DDD) de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA) combinados con un dominio de anclaje (AD) de la proteína de anclaje de la quinasa A (AKAP) (también denominado "dock-and-lock" o "DNL"), estreptavidina, dominios de multimerización de verotoxina B, regiones de tetramerización de p53 y dominios de interacción barnasa-barstar (Pack P, Plückthun A, *Biochemistry* 31: 1579-84 (1992); Holliger P et al., *Proc Natl Acad Sci. USA* 90: 6444-8 (1993); Kipriyanov S et al., *Hum Antibodies Hybridomas* 6: 93-101 (1995); de Kruif J, Logtenberg T, *JBiol Chem* 271: 7630-4 (1996); Hu S et al., *Cancer Res* 56: 3055-61 (1996); Kipriyanov S et al., *Protein Eng* 9: 203-11 (1996); Rheinnecker M et al., *J Immunol* 157: 2989-97 (1996); Tershikh A et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 1663-8 (1997); Müller K et al., *FEBS Lett* 422: 259-64 (1998); Cloutier S et al., *Mol Immunol* 37: 1067-77 (2000); Li S et al., *Cancer Immunol Immunother* 49: 243-52 (2000); Schmiel A et al., *Protein Eng* 13: 725-34 (2000); Schoonjans R et al., *J Immunol* 165: 7050-7 (2000); Borsi Let al., *Int J Cancer* 102: 75-85 (2002); Deyev S et al., *Nat Biotechnol* 21: 1486-92 (2003); Wong W, Scott J, *Nat Rev Mol Cell Biol* 5: 959-70 (2004); Zhang J et al., *J Mol Biol* 335: 49-56 (2004); Baillie G et al., *FEBS Letters* 579: 3264-70 (2005); Rossi E et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 6841-6 (2006); Simmons D et al., *J Immunol Methods* 315: 171-84 (2006); Braren I et al., *Biotechnol Appl Biochem* 47: 205-14 (2007); Chang C et al., *Clin Cancer Res* 13: 5586-91s (2007); Liu M et al., *Biochem J* 406: 237-46 (2007); Zhang J et al., *Protein Expr Purif* 65: 77-82 (2009); Bell A et al., *Cancer Lett* 289: 81-90 (2010); Iqbal U et al., *Br J Pharmacol* 160: 1016-28 (2010); Asano R et al., *FEBS J* 280: 4816-26 (2013); Gil D, Schrum A, *Adv Biosci Biotechnol* 4: 73-84 (2013)).

[0641] En ciertas realizaciones, la estructura de una molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención se diseña a partir de un anticuerpo o fragmento Fab. Por ejemplo, se pueden diseñar moléculas multivalentes que reconocen células utilizando enfoques conocidos por el experto (véase, por ejemplo, Shuford W et al., *Science* 252: 724-7 (1991); Caron P et al., *J Exp Med* 176: 1191- 5 (1992); Shopes B, *J Immunol* 148: 2918-22 (1992); Wolff E et al., *Cancer Res* 53: 2560-5 (1993)).

[0642] En ciertas realizaciones de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención, todas las regiones de unión que reconocen células de las moléculas multivalentes que reconocen células son idénticas y/o comparten las mismas especificidades de unión. En tales realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención es monoespecífica, lo que significa que comprende regiones de unión que se unen con alta afinidad a la misma biomolécula diana extracelular, epítomos extracelulares superpuestos en la misma biomolécula diana y/o el mismo epítomo extracelular en una biomolécula objetivo. El experto puede determinar si dos regiones de unión se unen a la misma parte extracelular de una biomolécula diana con métodos disponibles, tales como, por ejemplo, usando empíricamente ensayos de unión competitivos o de forma predictiva basándose en la superposición de epítomo conocido y/o péptido inmunizado. secuencias.

[0643] En ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención puede comprender regiones de unión que se unen con alta afinidad a epítomos no idénticos, ya sea que no se superpongan o se superpongan. Las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención pueden comprender regiones de unión con alta afinidad de unión a epítomos que no se superponen. Se pueden crear moléculas multiespecíficas y multivalentes que reconocen células de la presente invención usando dos o más regiones de unión diferentes, tales como, por ejemplo, dos scFv, $V_H H$, V_{NAR} y/o IgNAR diferentes en diacuerpos, tricuerpos, formatos en tándem. (incluidos los tándems di-scFv en tándem, tri-scFv en tándem y scFv-Fc), diacuerpos de cadena únicas (scDb), Fv en tándem, scFv biespecífico (Bis-scFv), scFv₂, (Fab')₃, tetramérico (scFv₂)₂, scFv₂-Fc y combinaciones de scFv, $V_H H$, V_{NAR} y/o IgNAR con diferentes especificidades (Adams G et al., *Cancer Res* 53: 4026-34 (1993); Mallender W et al., *J Biol Chem* 269: 199-206 (1994); Todorovska A et al., *J Immunol Methods* 248: 47-66 (2001); Korn T et al., *J Gene Med* 6: 642-51 (2004); Lu D et al., *J Biol Chem* 280: 19665-72 (2005); Schneider M et al., *Eur J Immunol* 35: 987-95 (2005); Wittel U et al., *Nucl Med Biol* 32: 157-64 (2005).); Semenyuk E et al., *Biochimie* 89: 31-8 (2007)).

[0644] En ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención puede comprender un único componente polipeptídico continuo que está multimerizado consigo mismo o con otra proteína para formar una estructura multimérica. Por ejemplo, los scFv bivalentes de cadena únicas, a veces denominados scFv en tándem (taFv), diacuerpos de cadena única (scDbs) y diacuerpos en tándem (tanDbs o Tandabs), pueden expresarse como una única cadena polipeptídica continua (Mack M et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 7021-5 (1995); Kipriyanov S et al., *J Mol Biol* 293: 41-56 (1999); Cochlovius, B et al., *Cancer Res* 60: 4336-41 (2000); Völkel T et al., *Protein Eng* 14: 815-23 (2001); Kipriyanov S et al., *J Mol Biol* 330: 99-111 (2003); Schlereth B et al., *Cancer Res* 65: 2882-9 (2005).). Estas estructuras multivalentes pueden diseñarse para multimerizarse en estructuras de orden superior y valencia superior, tales como, por ejemplo, estructuras tetraivalentes F(ab')₂, (taFv)₂ y (scDb)₂ (véase Todorovska A et al., *J Immunol Methods* 248: 47-66 (2001)).

[0645] El experto conoce las estructuras que comprenden dos scFv unidos mediante interacciones no covalentes debido al emparejamiento intermolecular de regiones variables, tales como, por ejemplo, diacuerpos, minianticuerpos y minianticuerpos bivalentes, todos los cuales pueden ser ya sea monoespecífico o biespecífico (Holliger, P et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 6444-8 (1993); Pack P et al., *Biotechnology (NY)* 11: 1217-7 (1993); Tai M et al., *Cancer Res (Suppl)* 55: 5983-9 (1995); Atwell J et al., *Mol Immunol* 33: 1301-12 (1996); Rheinnecker M et al., *J Immunol* 157: 2989-97 (1996); Schier R et al., *J Mol Biol* 255: 28-43 (1996); Adams G et al., *Br J Cancer* 77: 1405-12 (1998); Todorovska A et al., *J Immunol Methods* 248: 47-66 (2001); Bühler P et al., *Cancer Immunol Immunother* 57: 43-52 (2008)). Se ha

observado que numerosos monómeros scFv forman naturalmente multímeros u oligómeros (por ejemplo, diacuerpos, tricuerpos y tetracuerpos) debido a la autoasociación, siendo la forma mayoritaria dimérica para estructuras scFv que comprenden enlazadores de 3-12 residuos de aminoácidos (Essig N et al., J Mol Biol 234: 897-901 (1993); Griffiths A et al., EMBO J 12: 725-34 (1993); Holliger P et al., Proc Natl Acad Sci USA 90: 6444-8 (1993); Whitlow M et al., Protein Eng 6: 989-95 (1993); Desplancq D et al., Protein Eng 7: 1027-33 (1994); Whitlow M et al., Protein Eng 7, 1017-26 (1994); Kortt A et al., Protein Eng 10: 423-33 (1997); Arndt K et al., Biochemistry 37: 12918-26 (1998); Atwell J et al., Protein Eng 12: 597-604 (1999)).

[0646] En general, las estructuras scFv con un enlazador relativamente corto de cinco a diez residuos de aminoácidos o menos tienen una mayor tendencia a la homodimerización (Arndt K et al., Biochemistry 37: 12918-26 (1988); Holliger P et al., Proc Natl Acad Sci USA 90: 6444-8 (1993); Perisic O et al., Structure 2: 1217-26 (1994); Atwell J et al., Mol Immunol 33: 1301-12 (1996); Iliades P et al., FEBS Lett 409: 437-41 (1997); Kortt A et al., Protein Eng 10: 423-33 (1997); Metzger D et al., Protein Eng 10: 423-33 (1997); Pei X et al., Proc Natl Acad Sci USA 94: 9637-42 (1997); Atwell J et al., Protein Eng 12: 597-604 (1999); Denton G et al., Cancer Immunol Immunother 48: 29-38 (1999); Le Gall F et al., FEBS Lett 453: 164-8 (1999); Atwell J et al., Protein Eng 12: 597-604 (1999); Dolezal, O et al., Protein Eng 13: 565-74 (2000); Nielsen U et al., Cancer Res 60: 6434-40 (2000); Todorovska A et al., J Immunol Methods 248: 47-66 (2001); Wu A et al., Protein Eng 14: 1025-33 (2001); Arndt M et al., FEBS Lett 578: 257-61 (2004); Le Gall F et al., J Immunol Methods 285: 111-27 (2004)). En cambio, los scFvs con enlazadores que comprenden como mínimo 12 residuos de aminoácidos forman predominantemente monómeros con solo una fracción minoritaria que experimenta una multimerización espontánea (Nielsen U et al., Cancer Res 60: 6434-40 (2000); Denton G et al., Cancer Immunol Immunother 48: 29-38 (1999); Kortt A et al., Biomol Eng 18: 95-108 (2001); Völkel T et al., Protein Eng 14: 815-23 (2001)).

[0647] El uso de enlazadores de tres residuos de aminoácidos o menos puede promover la multimerización a estructuras de orden superior más grandes que las formas diméricas. Si un scFv tiene un enlazador de menos de 3 residuos, entonces puede favorecerse la trimerización (Iliades P et al., FEBS Lett 409: 437-41 (1997)); Kortt A et al., Biomol Eng 18: 95-108 (2001); Todorovska A et al., J Immunol Methods 248: 47-66 (2001); Amdt M et al., FEBS Lett 578: 257-61 (2004)). Además, los scFv con enlazadores muy cortos, por ejemplo, enlazadores de 2 residuos de aminoácidos o menos, a menudo forman trímeros y/o mezclas de trímeros y tetrámeros (Pei X et al., Proc Natl Acad Sci USA 94: 9637-42 (1997); Hudson P, Kortt A, J Immunol Methods 231: 177-89 (1999); Dolezal O et al., Protein Eng 13: 565-74 (2000); Power B et al., Protein Sci 12: 734-47 (2003); Le Gall F et al., J Immunol Methods 285: 111-27 (2004)). En ciertas disposiciones con enlazadores cortos, pueden favorecerse los tetrámeros (Dolezal O et al., Protein Eng 13: 565-74 (2003); Amdt M et al., FEBS Lett 578: 257-61 (2004)). Se pueden formar estructuras multiméricas mediante scFv que carecen de cualquier enlazador, es decir, que tienen una longitud de enlazador de cero residuos de aminoácidos. Por ejemplo, el enlace directo de dominios variables con V_L antes de V_H puede favorecer la formación de tetracuerpos (Iliades P et al., FEBS Lett 409: 437-41 (1997)) mientras que V_H antes de V_L puede favorecer trímeros (Kortt A et al., Protein Eng 10: 423-33 (1997)).

[0648] Además de la longitud del enlazador, la orientación de los dominios variables puede afectar las características de multimerización (Huston J et al., Proc Natl Acad Sci USA 85, 5879-83 (1988); Padian E, Mol Immunol 31: 169-217 (1994); Kortt A et al., Protein Eng 10: 423-33 (1997); Dolezal, O et al., Protein Eng 13: 565-74 (2000); Carmichael J et al., J Mol Biol 326 : 341-51 (2003); Amdt M et al., FEBS Lett 578: 257-61 (2004)). Se ha sugerido que la orientación V_L - V_H muestra una mayor tendencia a formar oligómeros de mayor peso molecular que la orientación inversa porque la orientación V_L - V_H está más restringida (Kortt A et al., Protein Eng 10: 423-33 (1997); Dolezal, O et al., Protein Eng 13: 565-74 (2000); Plückerthun A, Pack P, Immunotechnology 3: 83-105 (1997)).

[0649] El mismo enlazador ha mostrado variabilidad en su efecto sobre la multimerización de scFv dependiendo de la orientación V_H y V_L , tal como, por ejemplo, afectando las proporciones relativas de formas diméricas a triméricas (Le Gall F et al., FEBS Lett 453 : 164-8 (1999); Amdt M et al., FEBS Lett 578: 257-61 (2004); Le Gall F et al., J Immunol Methods 285: 111-27 (2004)).

[0650] Los dominios de inmunoglobulina V_{HH} de camélido se han multimerizado utilizando bisagras particulares y cadenas múltiples VHH unidas covalentemente (en tándem) (Fraile S et al., Mol Microbiol 53: 1109-21 (2004); Zhang J et al., J Mol Biol 335: 49-56 (2004)). Los dominios de inmunoglobulina de conductos, tales como IgNAR, se han multimerizado utilizando ciertas bisagras o estabilización de enlaces disulfuro mediada por cisteína (véase, por ejemplo, Simmons et al., J Immunol Methods 315: 171-84 (2006)).

[0651] Por tanto, la generación de moléculas multivalentes que reconocen células que comprenden diversos dominios de inmunoglobulina puede controlarse mediante estrategias de ingeniería molecular que son covalentes o no covalentes, tales como, por ejemplo, estrategias covalentes que implican disposiciones en tándem monocatenarias, estrategias covalentes que implican Multímeros estabilizados por enlaces disulfuro mediados por cisteína y/o estrategias no covalentes que implican dominios de dimerización, elección de enlazadores y/o orden de dominio variable. Se pueden combinar múltiples estrategias (por ejemplo, multimerización no covalente relacionada con el enlazador y estabilización de enlaces disulfuro covalentes) al crear estructuras que son moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención (véase, por ejemplo, Lu D et al., J Immunol Methods 279: 219-32 (2003)).

[0652] Para determinadas aplicaciones, la estabilidad de la proporción relativa de molécula(s) multivalente(s) dirigida(s) a células con respecto al total de moléculas que reconocen células en una composición puede ser importante para la eficacia de la composición. Por ejemplo, en determinadas aplicaciones médicas, la estabilidad de las proporciones relativas de molécula(s) dirigida(s) a células multivalentes de la presente invención con respecto a molécula(s) dirigida(s) a células monovalente(s) puede ser importante. En determinadas aplicaciones, la estabilidad de las proporciones relativas de moléculas bivalentes que reconocen células con respecto a moléculas que reconocen células de mayor valencia puede ser importante. En determinadas aplicaciones, la estabilidad de la proporción relativa de moléculas bivalentes que reconocen células con respecto a moléculas no bivalentes que reconocen células puede ser importante.

[0653] Para ciertas realizaciones, se pueden usar uno o más pasos de multimerización controlada de algunos o todos los componentes de una molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención para producir una composición.

[0654] Para ciertas aplicaciones, la minimización o control de otro modo de la agregación no deseada y/o multimerización de moléculas que reconocen células puede ser importante para ciertas composiciones de la presente divulgación. Por ejemplo, con ciertos agentes terapéuticos proteicos, la agregación y/o multimerización de la molécula terapéutica puede en ciertas situaciones aumentar el riesgo de respuestas inmunes no deseadas en los receptores del agente terapéutico proteico. En particular, la agregación y/o multimerización de moléculas que reconocen células para formar complejos de mayor peso molecular puede aumentar el riesgo de respuestas inmunes no deseadas después de la administración de ciertas composiciones de moléculas que reconocen células a ciertos receptores. Además, las proteínas mal plegadas y los productos proteicos degradados pueden presentar una mayor inmunogenicidad en comparación con sus homólogos plegados correctamente.

[0655] Por todas estas razones y dependiendo de la aplicación específica, el trabajador experto apreciará si existe la necesidad de considerar 1) la estabilidad de las moléculas multivalentes que reconocen células de las composiciones de la presente divulgación y 2) la estabilidad de las proporciones de diferentes moléculas que reconocen células presentes en las composiciones de la presente divulgación. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención y sus composiciones son el resultado de una multimerización controlada y/o ciertas etapas de purificación. De manera similar, en ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención se diseñará para eliminar o reducir ciertas posibilidades de multimerización. En ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención se diseñará para evitar la formación de agregados no deseados, tales como, por ejemplo, bajo ciertas condiciones de almacenamiento como en una solución acuosa en 8, 4, 2, -4, -10, -20 o -25 °C.

[0656] Para ciertas aplicaciones de las composiciones de la presente divulgación, puede ser deseable minimizar en la composición de la presente divulgación la cantidad de: 1) moléculas multivalentes que reconocen células de alto peso molecular (por ejemplo, moléculas mayores que 175, 180, 190, 200 o 250 kDa o más); 2) moléculas que reconocen células muy multivalentes (es decir, moléculas que comprenden cinco o más regiones de unión que reconocen células); 3) multímeros de moléculas que reconocen células que son moléculas que reconocen células multivalentes de alto peso molecular que representan el número 1 y/o moléculas que reconocen células muy multivalentes que representan el número 2 (por ejemplo, ciertos multímeros grandes, no covalentes, de moléculas que reconocen células); 3) proteínas mal plegadas (por ejemplo, proteínas que reconocen células mal plegadas o componentes proteicos de las mismas); y/o 4) productos de degradación (por ejemplo, fragmentos de proteína no deseados de un componente proteico de una molécula multivalente de reconocimiento de células, tal como, por ejemplo, un fragmento polipeptídico de una región efectora de la toxina Shiga o una región de unión de reconocimiento de células). Por ejemplo, una justificación para minimizar la cantidad de cualquiera de los tipos de moléculas enumeradas en los números 1 a 4 anteriores podría ser para aplicaciones médicas donde la presencia de ciertas cantidades de estas moléculas podría aumentar el potencial de reacciones antigénicas y/o inmunogénicas no deseadas. reacciones en un receptor de una composición de la presente divulgación, tales como, por ejemplo, mediante la presencia de estas moléculas que revelan nuevos epítomos o formando motivos repetitivos identificados más fácilmente por el sistema inmunológico de un receptor como extraños.

[0657] El trabajador experto puede usar métodos de rutina para evaluar los estados de multimerización de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención y/o moléculas presentes en las composiciones de la presente divulgación. El trabajador experto puede usar métodos de rutina para minimizar la presencia o proporción relativa de agregados de moléculas que reconocen células, multímeros de proteínas que reconocen células de alto peso molecular, proteínas que reconocen células mal plegadas y productos de degradación de proteínas que reconocen células en las composiciones de la presente divulgación.

[0658] En ciertas realizaciones de las composiciones de la presente divulgación, la proporción relativa de formas bivalentes, trivalentes y/o tetravalentes de molécula(s) dirigida(s) a células multivalentes se maximiza, tal como mediante purificación adicional lejos de moléculas que reconocen células monovalentes. proteína(s), molécula(s) que reconocen células de mayor peso molecular, proteínas que reconocen células mal plegadas y/o productos de degradación de proteínas.

[0659] El trabajador experto puede utilizar métodos de rutina para crear una molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención, y composiciones de la misma. El trabajador experto puede usar métodos de rutina para estabilizar las proporciones relativas de ciertas moléculas multivalentes que reconocen células con respecto a otras moléculas en una composición de la presente divulgación, incluidas las proporciones de diferentes formas multiméricas de moléculas que reconocen células, tales como, por ejemplo, las proporciones de moléculas que reconocen células multiméricas, multivalentes y no covalentemente unidas a moléculas que reconocen células multiméricas, multivalentes y no unidas covalentemente (véase, por ejemplo, Gil D, Schrum A, *Adv Biosci Biotechnol* 4: 73-84 (2013); WO2005000898). Por ejemplo, la multimerización de molécula(s) dirigida(s) a células en composiciones de la presente divulgación se puede controlar y/o minimizar, tal como, por ejemplo, eligiendo ciertos enlazadores para unir y/o asociar diferentes componentes y/o subunidades de la molécula(s) dirigida(s) a células presentes en las composiciones de la presente divulgación. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la región de unión de reconocimiento de células de la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención está diseñada para minimizar la formación de asociaciones, multímeros y/o agregados intermoleculares no deseados, tales como, por ejemplo, mediante el uso de scFvs, fragmentos Fv o Fabs estabilizados con disulfuro (véase, por ejemplo, Reiter Y et al., *J Biol Chem* 269: 18327-31 (1994); Kuan C, Pastan I, *Biochemistry* 35: 2872-7 (1996); Almog O et al., *Proteins* 31: 128-38 (1998); Schoonjans R et al., *J Immunol* 165: 7050-7 (2000); Olafsen T et al., *Protein Eng Des Sel* 17: 21-7 (2004); Gil D, Schrum A, *Adv Biosci Biotechnol* 4: 73-84 (2013); EE.UU. 20120283418); conexiones de bucle de base (véase, por ejemplo, Brinkmann U et al., *J Mol Biol* 268: 107-17 (1997)); y/u otras modificaciones, tales como la adición de residuos cargados, glicanos y/o truncamientos de dominios de inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Gong R et al., *Mol Pharm* 10: 2642-52 (2013); Lee C et al., *Trends Biotechnología* 31: 612-20 (2013)).

[0660] En ciertas realizaciones de la presente invención, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión de reconocimiento de células que es un scFv diseñado para no agregarse, tal como, por ejemplo, usando un enlazador más corto (típicamente menos de doce residuos de aminoácidos) y/o enlazador estabilizado con disulfuro que une las regiones de cadena pesada y ligera del scFv (véase, por ejemplo, Brinkmann U et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 7538-42 (1993); Whitlow M et al., *Protein Engineering* 6: 989-95 (1993); Reiter Y et al., *Biochemistry* 33: 5451-9 (1994); Gong R et al., *Molecular Pharmaceutics* 10: 2642-52 (2013)).

[0661] La composición de molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente divulgación minimiza la proporción con respecto a otras moléculas que reconocen células de ciertas moléculas multivalentes que reconocen células con una valencia mayor que dos. La composición de moléculas multivalentes que reconocen células de la presente divulgación puede comprender un porcentaje relativo de moléculas multivalentes que reconocen células con una valencia superior a cuatro que es 15 %, 10 %, 7,5 %, 5 %, 2 %, 1 % o menos del total de moléculas que reconocen células en la composición. Una composición de molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente divulgación puede comprender un porcentaje relativo de moléculas que reconocen células con una valencia superior a tres con respecto a otras moléculas que reconocen células que es 15%, 10%, 7,5%, 5%, 2%, 1% o menos del total de moléculas que reconocen células en la composición. Una composición de moléculas multivalentes que reconocen células de la presente divulgación puede comprender un porcentaje de moléculas que reconocen células con una valencia mayor que dos que es 15%, 10%, 7,5%, 5%, 2%, 1% o menos de la moléculas que reconocen células totales en la composición.

[0662] La composición de la presente divulgación puede maximizar la proporción relativa de moléculas multivalentes que reconocen células con exactamente dos regiones de unión que reconocen células con respecto al total de moléculas que reconocen células. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, una composición de la presente divulgación comprende una proporción de molécula de reconocimiento de células con solo dos regiones de unión de reconocimiento de células que es del 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 92 %, 93 % o más. del total de moléculas que reconocen células en la composición.

[0663] Para ciertas aplicaciones, puede ser deseable mantener la estabilidad (por ejemplo, la estabilidad de asociaciones y/o enlaces entre componentes y/o subunidades de las moléculas multivalentes que reconocen células) de moléculas multivalentes que reconocen células en una composición multivalente de la presente divulgación, tal como, por ejemplo, para minimizar la degradación durante la formulación, almacenamiento (tal como, por ejemplo, almacenamiento en una solución acuosa a 8, 4, 2, -4, -10, -20 o -25 ° C), y/o después de la administración a un destinatario. El trabajador experto puede usar métodos bien conocidos para minimizar la separación de componentes o subunidades para una molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención, tal como, por ejemplo, usando enlaces de alta estabilidad entre los polipéptidos efectores de la toxina Shiga y la región de unión. s) y/o mediante ingeniería de enlaces disulfuro entre componentes, regiones o subregiones de una molécula multivalente de reconocimiento de células o entre proteínas monovalentes que reconocen células para generar proteínas multivalentes que reconocen células de la presente invención (ver, por ejemplo, Gil D, Schrum A, *Adv Biosci Biotechnol* 4: 73-84 (2013)). El trabajador experto puede utilizar la adición o el mantenimiento de enlaces disulfuro intermoleculares para estabilizar ciertas regiones de unión que reconocen células de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención (véase, por ejemplo, Glockshuber R et al., *Biochemistry* 29: 1362-7 (1990); Stanfield R et al., *Science* 305: 1770-3 (2004); Hagihara Y et al., *J Biol Chem* 282: 36489-95 (2007); Chan P et al., *Biochemistry* 47: 11041-54 (2008); Saerens D et al., *J Mol Biol* 478-88 (2008); Hussack G et al., *PLoS One* 6: e28218 (2011); Govaert J et al., *J Biol Chem* 287: 1970-9 (2012); Kim D et al., *Protein Eng Des Sel* 25: 581-9 (2012); Gil D,

Schrum A, *Adv Biosci Biotechnol* 4: 73-84 (2013); McConnell A et al., *Protein Eng Des Sel* 25: 581 -9 (2013); Feige M et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 111: 8155-60 (2014); Hagihara Y, Saerens D, *Biochim Biophys Acta* 1844: 2016-2023 (2014); Kim D et al., *Mabs* 6: 219-35 (2014)).

5 [0664] En ciertas realizaciones, la molécula multivalente de reconocimiento de células de la presente invención comprende una(s) región(es) de unión de reconocimiento de células que comprende un dominio de inmunoglobulina y/o una estructura de Ig que tiene un enlace disulfuro intradominio, tal como, por ejemplo, el enlace disulfuro que se encuentra de forma nativa entre las cadenas β B y F de ciertas inmunoglobulinas y/o un enlace disulfuro entre sus cadenas pesada y ligera de o derivadas de una inmunoglobulina. Sin embargo, en ciertas realizaciones de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención, las moléculas son muy estables incluso aunque no comprendan un enlace disulfuro intradominio o ningún enlace disulfuro intradominio dentro de una o más regiones de unión que reconocen células. (véase, por ejemplo, Proba K et al., *Biochemistry* 37: 13120-7 (1998); Wörn A, Plückthun A, *Biochemistry* 37: 13120-7 (1998); Wörn A, Plückthun A, *FEBS Lett* 427: 357-61 (1998).); Ramm K et al., *J Mol Biol* 290: 535-46 (1999); Tanaka T, Rabbitts T, *J Mol Biol* 376: 749-57 (2008)).

15 [0665] La composición de la presente divulgación puede comprender una molécula multivalente de reconocimiento de células con uno o más enlaces disulfuro entre dos o más residuos de cisteína contenidos dentro de regiones polipeptídicas efectoras de toxina Shiga de diferentes cadenas polipeptídicas. La composición de la presente divulgación puede comprender una molécula proteica, dimérica, multivalente de reconocimiento de células con cinco enlaces disulfuro, tal como, por ejemplo, la molécula dimérica multivalente de reconocimiento de células que comprende: 1) cuatro enlaces disulfuro intramoleculares que representan dos enlaces disulfuro por región de unión de reconocimiento de células derivadas de inmunoglobulina y donde cada enlace disulfuro implica un par de residuos de cisteína y donde un residuo de cisteína de cada par está dentro de un dominio derivado de la cadena pesada de inmunoglobulina y el otro residuo de cisteína del par está dentro de una cadena ligera de inmunoglobulina dominio derivado; y 2) un enlace disulfuro intermolecular que une dos regiones efectoras de la toxina Shiga en donde el enlace disulfuro ocurre entre un par de residuos de cisteína donde cada residuo de cisteína del par está dentro de una región efectora de la toxina Shiga pero las regiones efectoras de la toxina Shiga están dentro de diferentes cadenas polipeptídicas que representan diferentes subunidades de una proteína multivalente de reconocimiento de células de la presente invención.

30 [0666] Ciertas realizaciones de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención son proteínas de fusión citotóxicas que reconocen células. Ciertas realizaciones adicionales son las moléculas que reconocen células que comprenden o constan de dos proteínas seleccionadas de cualquiera de las proteínas mostradas en las SEQ ID NO: 389-404, 407, 420-421, 425-429, 459-473 y 656; o cualquiera de las SEQ ID NO: 389-404, 407 y 656 que comprende además un residuo de metionina amino terminal, como se indica en las reivindicaciones.

40 [0667] Para los fines de la presente invención, el orden u orientación específica no está fijado para el polipéptido(s) efector de la toxina Shiga y las dos o más regiones de unión en relación entre sí o con la molécula diana de células multivalente completa de la presente invención. Los componentes de las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente invención pueden disponerse en cualquier orden, dentro del alcance de las reivindicaciones, siempre que las actividades deseadas de las regiones de unión y el polipéptido efector de la toxina Shiga no se eliminen, en particular la capacidad de la molécula de reconocimiento de células para unirse a células que expresan diana, la capacidad de la molécula de reconocimiento de células para internalizarse en una célula diana, y la capacidad del componente polipeptídico efector de la toxina Shiga para suministrar una carga de epítipo de células T CD8+ a la vía MHC clase I de una célula en la que está presente. Otras actividades deseadas incluyen proporcionar a la molécula multivalente de reconocimiento de células la capacidad de, por ejemplo, inducir rápidamente la internalización celular; provocar una internalización eficiente; ruta intracelular a uno o varios compartimentos subcelulares deseados; causar citostasis; causar citotoxicidad; destruir selectivamente las células que expresan el objetivo; suministrar materiales exógenos al interior de una célula; diagnosticar una enfermedad, trastorno o condición; y/o tratar una enfermedad, trastorno o afección en un paciente que lo necesite.

55 [0668] Cada una de las moléculas que reconocen células de la presente invención comprende una región de unión de reconocimiento de células que puede unirse específicamente a al menos una biomolécula diana extracelular en asociación física con una célula, tal como una biomolécula diana expresada en la superficie de una célula. Esta estructura general es modular en el sentido de que se puede utilizar cualquier número de diversos restos dirigidos a células como región de unión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. Está dentro del alcance de la presente divulgación usar fragmentos, variantes y/o derivados de las moléculas que reconocen células de la presente invención que contienen un sitio de unión funcional a cualquier parte extracelular de una biomolécula objetivo, e incluso más preferiblemente capaz de unirse a una biomolécula diana con alta afinidad (por ejemplo, como lo muestra una K_D inferior a 10^{-9} moles/litro). Por ejemplo, aunque la presente invención proporciona secuencias polipeptídicas que pueden unirse a proteínas humanas, cualquier región de unión que se una a una parte extracelular de una biomolécula diana con una constante de disociación (K_D) de 10^{-5} a 10^{-12} moles/litro, preferiblemente menos de 200 nM, pueden sustituirse para su uso en la fabricación de moléculas que reconocen células de la presente invención y los métodos descritos en el presente documento.

III. Funciones generales de las moléculas que reconocen células de la presente invención

5 [0669] Las moléculas que reconocen células de la presente invención se pueden usar como moléculas citotóxicas que reconocen células, moléculas terapéuticas, moléculas de etiquetado celular y moléculas de diagnóstico, por ejemplo, a través de sus capacidades para dirigirse a tipos de células específicas basadas en la superficie celular. expresión del marcador, ingresa a las células diana y suministro intracelularmente su carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ a la vía MHC de clase I, lo que da como resultado la presentación en la superficie celular del péptido-epítipo de células T CD8+ por parte de las células diana.

10 [0670] Para ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención proporciona, después de la administración a un cordado, uno o más de los siguientes: 1) destrucción potente y selectiva de células objetivo, por ejemplo, células infectadas y/o neoplásicas, 2) estabilidad del enlace entre la región de unión de reconocimiento de las células y el componente polipeptídico efector de la toxina Shiga mientras la molécula de reconocimiento de las células está presente en espacios extracelulares, por ejemplo, en el sistema circulatorio de un cordado (véase, por ejemplo, el documento WO 2015/191764), 3) niveles bajos de muerte celular fuera del objetivo y/o daño tisular no deseado (ver, por ejemplo, WO 2015/191764), y 4) administración de reconocimiento de células de una carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ para la presentación en la superficie celular mediante moléculas de MHC de clase I de células diana para estimular respuestas inmunitarias deseables, tales como, por ejemplo, el reclutamiento de CTL CD8+ y la liberación localizada de citocinas inmunoestimuladoras en un locus tisular, por ejemplo, una masa tumoral. Además, la presentación de epítopos-péptidos de células T CD8+ heterólogos administrados por células diana marca aquellas células que presentan pMHC Is que pueden detectarse con el fin de recopilar información, tal como, por ejemplo, para información de diagnóstico.

25 [0671] Las moléculas que reconocen células de la presente invención son útiles en diversas aplicaciones que implican, por ejemplo, administración dirigida de un cargamento de epítipo de células T CD8+, estimulación de la respuesta inmune, destrucción celular dirigida, inhibición del crecimiento celular dirigida, recopilación de información biológica. y/o remediación de una condición de salud. Las moléculas que reconocen células de la presente invención son útiles como moléculas terapéuticas y/o de diagnóstico, tales como, por ejemplo, como vehículos de administración no tóxicos dirigidos a células; moléculas terapéuticas citotóxicas que reconocen células; y/o moléculas de diagnóstico que reconocen células; por ejemplo, en aplicaciones que implican el direccionamiento in vivo de tipos de células específicas para el diagnóstico o tratamiento de una variedad de enfermedades, incluidos cánceres, trastornos inmunológicos e infecciones microbianas. Ciertas moléculas que reconocen células de la presente invención pueden usarse para tratar un cordado afectado por un tumor o cáncer mejorando la eficacia de la inmunidad antitumoral de ese cordado, involucrando particularmente mecanismos mediados por células T CD8+ (ver, por ejemplo, Ostrand-Rosenberg S, Curr Opin Immunol 6: 722-7 (1994); Pietersz G et al., Cell Mol Life Sci 57: 290-310 (2000); Lazoura E et al., Immunology 119: 306-16 (2006)).

40 [0672] Dependiendo de la realización, una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede tener o proporcionar una o más de las siguientes características o funcionalidades: (1) estimulación in vivo de la(s) respuesta(s) inmune(s) de células T CD8+, (2) desinmunización (ver, por ejemplo, WO 2015/113005, WO 2015/113007 y WO 2015/191764), (3) resistencia a la escisión por proteasa (ver, por ejemplo, WO 2015/191764 y WO 2015/191764), (4) citotoxicidad potente a ciertas concentraciones, (5) citotoxicidad selectiva, (6) baja toxicidad fuera del objetivo en organismos multicelulares a ciertas dosis o dosificaciones (ver, por ejemplo, WO 2015/191764 y WO 2015/191764), y/o (7) administración intracelular de un carga consistente en un material adicional (por ejemplo, un ácido nucleico o un agente promotor de la detección). Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención son multifuncionales porque las moléculas tienen dos o más de las características o funcionalidades descritas en el presente documento. Ciertas realizaciones adicionales de las moléculas que reconocen células de la presente invención proporcionan todas las características y funcionalidades antes mencionadas en una sola molécula.

50 [0673] Los mecanismos de acción de las moléculas terapéuticas que reconocen células de la presente invención incluyen la destrucción directa de células diana a través de funciones efectoras de la toxina Shiga, la destrucción celular indirecta a través de procesos intercelulares mediados por células inmunitarias y/o la educación del receptor. sistema inmunológico para rechazar ciertas células y loci tisulares, por ejemplo, una masa tumoral, como resultado de la "siembra de epítipo de células T CD8+".

A. Suministro de la carga del epítipo de células T CD8+ heterólogo a la vía de presentación del MHC Clase I de una célula diana

60 [0674] Una de las funciones principales de las moléculas que reconocen células de la presente invención es la administración de reconocimiento de células de uno o más cargas de epítopos de células T CD8+ heterólogas para la presentación de MHC de clase I por una célula cordada. Las moléculas que reconocen células de la presente invención son estructuras modulares para su uso como vehículos de administración general de prácticamente cualquier carga de epítipo de células T CD8+ a prácticamente cualquier célula diana cordada. La administración dirigida requiere que la molécula de reconocimiento de las células se una específicamente a una determinada célula objetivo, entre en la célula objetivo y entregue una carga de epítipo de células T CD8+ heteróloga intacta a un compartimento subcelular

competente para entrar en la vía de presentación del MHC de clase I. La suministro de una carga de epítipo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I de una célula diana utilizando una molécula de reconocimiento de células de la presente invención se puede utilizar para inducir a la célula diana a presentar el péptido-epítipo en asociación con moléculas de MHC de clase I. sobre una superficie celular.

5 [0675] Mediante el uso de epítopos inmunogénicos de MHC de clase I, tales como, por ejemplo, de un antígeno viral conocido, como cargas heterólogas de epítopos de células T CD8+ de las moléculas que reconocen células de la presente invención, la administración dirigida y la presentación de inmuno- Se pueden lograr antígenos estimulantes para estimular una función beneficiosa de una célula inmune cordada, por ejemplo in vitro, y/o un sistema inmune cordado in vivo.

15 [0676] En un cordado, la presentación de un epítipo inmunogénico de células T CD8+ mediante el complejo MHC clase I puede dirigirse a la célula presentadora para su muerte mediante citólisis mediada por CTL, promover que las células inmunitarias alteren el microambiente y enviar señales para el reclutamiento. de más células inmunes al sitio de la célula objetivo dentro del cordado. Ciertas moléculas que reconocen células de la presente invención son capaces de administrar, en condiciones fisiológicas, su carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ a la vía del MHC de clase I de una célula cordada diana para la presentación del epítipo de células T administrado complejado con un MHC de clase I. Yo molécula. Esto se puede lograr mediante la administración exógena de la molécula de reconocimiento de las células en un espacio extracelular, tal como, por ejemplo, la luz de un vaso sanguíneo, y a continuación permitiendo que la molécula de reconocimiento de las células encuentre una célula objetivo, entre en la célula y suministro intracelularmente su carga de epítopos de células T CD8+. La presentación de un epítipo de célula T CD8+ por una célula diana dentro de un cordado puede conducir a una(s) respuesta(s) inmune(s), incluyendo respuestas directamente a la célula diana y/o respuestas generales en la localización tisular de la célula diana dentro del cordado.

25 [0677] Las aplicaciones de estas funciones de administración de carga de epítopos de células T CD8+ y de presentación de MHC de clase I de las moléculas que reconocen células de la presente invención son amplias. Por ejemplo, la administración de un epítipo CD8+ a una célula y la presentación del MHC clase I del epítipo administrado por la célula en un cordado puede provocar la interacción intercelular de una célula T efectora CD8+ y puede conducir a la muerte de los CTL. la célula diana y/o secretar citocinas inmunoestimuladoras.

35 [0678] Las moléculas que reconocen células de la presente invención son capaces, tras la administración exógena, de administrar una o más cargas de epítopos de células T CD8+ para la presentación de MHC de clase I por una célula cordada nucleada. Para determinadas realizaciones, las moléculas que reconocen células de la presente invención son capaces de unirse a biomoléculas diana extracelulares asociadas con la superficie celular de tipos de células particulares y entrar en esas células. Una vez internalizadas dentro de un tipo de célula diana, las moléculas que reconocen células de la presente invención son capaces de administrar una carga de epítipo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I y ciertas realizaciones adicionales de las moléculas que reconocen células de la presente invención son capaces de de encaminar un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga al citosol de la célula.

45 [0679] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es capaz, desde un espacio extracelular, de administrar una o más cargas de epítopos de células T CD8+ heterólogas al proteosoma de una célula diana. La carga del epítipo de células T CD8+ liberada puede a continuación procesarse proteolíticamente y presentarse mediante la vía MHC clase I en la superficie de la célula diana. Para ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es capaz de administrar la carga heteróloga del epítipo de células T CD8+, que está asociada con la molécula de reconocimiento de células, a una molécula de MHC de clase I de una célula para la presentación de la péptido-epítipo por la molécula MHC de clase I en una superficie de la célula. Para ciertas realizaciones, al poner en contacto una célula con la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, la molécula de reconocimiento de células es capaz de suministrar la carga heteróloga del epítipo de células T CD8+, que está asociada con la molécula de reconocimiento de células, a una Molécula MHC de clase I de la célula para la presentación del péptido-epítipo por la molécula de MHC de clase I sobre una superficie de la célula.

55 [0680] Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es capaz, tras la administración a un sujeto cordado, de dirigirse a la administración de una o más cargas de epítopos de células T CD8+ heterólogas para la presentación de MHC de clase I por células diana específicas en el sujeto.

60 [0681] En principio, se puede elegir cualquier péptido-epítipo de células T CD8+ para su uso en una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. Por tanto, las moléculas que reconocen células de la presente invención son útiles para marcar las superficies de células diana con moléculas de MHC de clase I formando complejos con el péptido-epítipo de su elección.

65 [0682] Cada célula nucleada en un organismo mamífero puede ser capaz de presentar por la vía del MHC de clase I péptidos de epítipo de células T CD8+ inmunogénicos en sus superficies externas celulares formando complejos con moléculas de MHC de clase I. Además, la sensibilidad de reconocimiento de epítopos de células T es tan exquisita

que sólo se requiere la presentación de unos pocos complejos peptídicos MHC-I para dar como resultado una respuesta inmune; por ejemplo, incluso la presentación de un solo complejo puede ser suficiente para el acoplamiento intercelular. de una célula T efectora CD8+ (Sykulev Y et al., Immunity 4: 565-71 (1996)). Las células diana de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención pueden ser prácticamente cualquier tipo de célula cordada nucleada y no necesitan ser células inmunes y/o células presentadoras de antígenos profesionales. Ejemplos de células presentadoras de antígenos profesionales incluyen células dendríticas, macrófagos y células epiteliales especializadas con sistemas MHC de clase II funcionales. De hecho, las realizaciones preferidas de las moléculas que reconocen células de la presente invención no se dirigen a células presentadoras de antígenos profesionales. Una razón es que una respuesta inmune indeseable como resultado de la administración de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención sería una respuesta humoral de reconocimiento de la propia molécula de reconocimiento de células, tal como, por ejemplo, una molécula antide reconocimiento de células. Anticuerpo que reconoce un epítipo en la molécula de reconocimiento de las células. Por lo tanto, las células presentadoras de antígenos profesionales y ciertos tipos de células inmunitarias no deben ser objetivo de ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención porque la absorción de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención por estas células puede conducir a la reconocimiento de epítopos de células T y células B CD4+ presentes en la molécula de reconocimiento de células, particularmente en el componente(s) polipeptídico efector de la toxina Shiga y/o una carga antigénica, pero también incluido en la región de unión.

[0683] La capacidad de administrar un epítipo de células T CD8+ mediante ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención se puede lograr en condiciones variadas y en presencia de células espectadoras no objetivo, tales como, por ejemplo, una ex célula diana manipulada vivo, una célula diana cultivada in vitro, una célula diana dentro de una muestra de tejido cultivada in vitro, o una célula diana en un entorno in vivo como dentro de un organismo multicelular.

[0684] Para que una molécula de reconocimiento de células de la presente invención funcione según lo diseñado, la molécula de reconocimiento de células debe 1) entrar en una célula diana y 2) localizar su carga de epítipo de células T CD8+ en una ubicación subcelular competente para la entrada . en la vía del MHC clase I. Comúnmente, las moléculas que reconocen células de la presente invención logran la internalización de las células diana mediante endocitosis, tal como, por ejemplo, debido a un proceso natural que implica la biomolécula diana extracelular unida por la molécula de reconocimiento de células. Una vez que se internaliza la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, normalmente residirá en un compartimento endosómico temprano, tal como, por ejemplo, una vesícula endocitotica y estará destinada a la destrucción en un lisosoma o endosoma tardío. Una molécula de reconocimiento de células debe evitar el secuestro y la degradación completos de manera que al menos una porción de la molécula objetivo de células que comprende la carga del epítipo de células T escape a otro compartimento subcelular. Además, la célula diana debería expresar una molécula de MHC de clase I o ser capaz de ser inducida para que exprese una molécula de MHC de clase I.

[0685] La expresión de la molécula MHC de clase I no necesita ser nativa para la presentación en la superficie celular de un péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo (administrado como una carga por una molécula de reconocimiento de células de la presente invención) complejado. con una molécula MHC de clase I. Para determinadas realizaciones de la presente invención, se puede inducir que la célula diana exprese molécula(s) de MHC de clase I usando un método conocido por el experto, tal como, por ejemplo, mediante tratamiento con IFN- γ .

[0686] Comúnmente, las moléculas que reconocen células de la presente invención logran la administración de la vía MHC de clase I localizando sus cargas de epítopos de células T CD8+ en proteosomas en compartimentos citosólicos de células diana. Sin embargo, para ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede administrar un péptido-epítipo CD8+ heterólogo a la vía de presentación del MHC de clase I sin que el péptido-epítipo entre nunca en un compartimento citosólico y/o sin que el péptido-epítipo nunca entre. siendo procesado proteolíticamente por el proteosoma.

[0687] Para ciertas realizaciones de la presente invención, la célula diana puede inducirse a expresar diferentes subunidades de proteosoma y/o subtipos de proteosoma usando un método conocido por el experto, tal como, por ejemplo, mediante tratamiento con IFN- γ y/o TNF- α . Esto puede alterar el posicionamiento y/o la eficacia relativa del procesamiento proteolítico de los péptidos del epítipo CD8+ administrados al interior de la célula, tal como, por ejemplo, alterando los niveles relativos de actividades peptidasas de los proteosomas y los subtipos de proteosomas.

[0688] El epítipo de células T CD8+ que proporciona funciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención se puede detectar y controlar mediante una variedad de métodos estándar conocidos en la técnica para el experto y/o descritos en el presente documento. Por ejemplo, la capacidad de las moléculas que reconocen células de la presente invención para administrar una carga de epítipo de células T CD8+ e impulsar la presentación de este péptido por el sistema MHC clase I de células diana se puede investigar utilizando diversos ensayos in vitro e in vivo. incluyendo, por ejemplo, la detección/visualización directa de complejos MHC de clase I/péptido (pMHC Is), medición de las afinidades de unión del péptido de células T a moléculas de MHC de clase I y/o medición de las consecuencias funcionales de la presentación de pMHC I en el objetivo. células, por ejemplo, monitorizando las respuestas de los linfocitos T citotóxicos (CTL) (véanse, por ejemplo, los Ejemplos a continuación).

[0689] Ciertos ensayos para controlar y cuantificar la función de administración de la carga del epítipo de células T CD8+ de las moléculas que reconocen células de la presente invención implican la detección directa de un pMHC específico *in vitro* o *ex vivo*. Los métodos comunes para la visualización directa y la cuantificación de pMHC implican varios reactivos de inmunodetección conocidos por el experto. Por ejemplo, se pueden desarrollar anticuerpos monoclonales específicos para reconocer un pMHC I particular. De manera similar, se pueden usar receptores de células T multiméricos y solubles, como los reactivos TCR-STAR (Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.) para visualizar directamente o cuantificar pMHC Is específicos (Zhu X et al., *J Immunol* 176: 3223-32 (2006); véase, por ejemplo, Ejemplos, más adelante). Estos mAb específicos o receptores de células T multiméricos solubles se pueden usar con diversos métodos de detección, incluidos, por ejemplo, inmunohistoquímica, citometría de flujo y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

[0690] Un método alternativo para la identificación y cuantificación directa de pMHC implica análisis de espectrometría de masas, tales como, por ejemplo, el ensayo de presentación de antígeno ProPresent (ProImmune, Inc., Sarasota, FL, EE. UU.) en el que se extraen complejos péptido-MHC de clase I de las superficies de las células, a continuación los péptidos se purifican e identifican mediante espectrometría de masas de secuenciación (Falk K et al., *Nature* 351: 290-6 (1991)).

[0691] En ciertos ensayos para controlar la administración del epítipo de células T CD8+ y la función de presentación del MHC de clase I de las moléculas que reconocen células de la presente invención implican métodos computacionales y/o experimentales para controlar la unión y estabilidad del MHC de clase I y del péptido. Hay varios programas de software disponibles para uso por parte del trabajador experto para predecir las respuestas de unión de péptidos a alelos de MHC de clase I, tales como, por ejemplo, The Immune Epitope Database and Analysis Resource (IEDB) Analysis Resource MHC-I, herramienta de consenso de predicción de unión (Kim Y et al., *Nucleic Acid Res* 40: W525-30 (2012)). Se han aplicado de forma rutinaria varios ensayos experimentales, tales como, por ejemplo, ensayos de unión a la superficie celular y/o ensayos de resonancia de plasmones de superficie para cuantificar y/o comparar la cinética de unión (Miles K et al., *Mol Immunol* 48: 728-32 (2011)).

[0692] Alternativamente, las mediciones de la consecuencia de la presentación de pMHC I en la superficie celular se pueden realizar monitorizando la respuesta de los linfocitos T citotóxicos (CTL) al complejo específico. Estas mediciones incluyen el marcaje directo de los CTL con reactivos tetrámero o pentámero MHC de clase I. Los tetrámeros o pentámeros se unen directamente a los receptores de células T de una especificidad particular, determinada por el alelo y el complejo peptídico del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). Además, la cuantificación de citocinas liberadas, como el interferón gamma o las interleucinas mediante ELISA o inmunospot ligado a enzimas (ELISpot), se analiza comúnmente para identificar respuestas de CTL específicas. La capacidad citotóxica de CTL se puede medir utilizando varios ensayos, incluido el ensayo clásico de liberación de 51 Cromo (Cr) o ensayos alternativos de citotoxicidad no radiactiva (p. ej., kits no radiactivos CytoTox96® y kits CellTox™ CellTiter - GLO® disponibles en Promega Corp., Madison, WI, EE. UU.), Granzyme B ELISpot, ensayos de actividad de caspasa o ensayos de citometría de flujo de translocación LAMP-1. Para controlar específicamente la destrucción de células diana, se puede utilizar éster succinimidílico de diacetato de carboxifluoresceína (CFSE) para marcar fácil y rápidamente una población celular de interés para investigación *in vitro* o *in vivo* para controlar la destrucción de células diana marcadas con CFSE específicas de epítipo (Durward M et al., *J Vis Exp* 45 pii 2250 (2010)).

[0693] Las respuestas *in vivo* a la presentación de MHC de clase I pueden seguirse mediante la administración de un agente promotor de antígeno/MHC de clase I (por ejemplo, un péptido, una proteína o una vacuna de virus inactivado/atenuado) seguido de la exposición a un agente activo (por ejemplo, un virus) y monitorear las respuestas a ese agente, generalmente en comparación con controles no vacunados. Las muestras *ex vivo* pueden controlarse para determinar la actividad de CTL con métodos similares a los descritos anteriormente (por ejemplo, ensayos de citotoxicidad de CTL y cuantificación de la liberación de citoquinas).

[0694] La presentación del MHC de clase I en un organismo puede ir seguida de inmunología inversa. Por ejemplo, los complejos de moléculas HLA-A, HLA-B y/o HLA-C se aíslan de células intoxicadas con una molécula de reconocimiento de células de la presente invención que comprende antígeno X después de lisis usando afinidad inmune (p. ej., un anti-MHC I purificación "pulldown" del anticuerpo) y los péptidos asociados (es decir, los péptidos que estaban unidos por el pMHC Is aislado) se recuperan de los complejos purificados. Los péptidos recuperados se analizan mediante espectrometría de masas de secuenciación. Los datos de espectrometría de masas se comparan con una biblioteca de base de datos de proteínas que consta de la secuencia del péptido exógeno (no propio) (antígeno X) y el índice internacional de proteínas para humanos (que representa péptidos "propios" o no inmunogénicos). Los péptidos se clasifican por importancia según una base de datos de probabilidad. Se enumeran las secuencias peptídicas antigénicas (no propias) detectadas. Los datos se verifican buscando en una base de datos de señuelos codificados para reducir los resultados falsos (véase, por ejemplo, Ma B, Johnson R, *Mol Cell Proteomics* 11: 0111.014902 (2012)). Los resultados pueden demostrar qué péptidos del antígeno X de células T CD8+ se presentan en complejos MHC I en la superficie de células diana intoxicadas con moléculas que reconocen células.

B. Destrucción celular: citotoxicidad de toxina Shiga dirigida directamente y/o citotoxicidad mediada por células dirigida indirectamente mediante el reclutamiento de CTL

[0695] Las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden proporcionar una administración específica de tipo celular de: 1) cargas de epítomos de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I para la presentación y el acoplamiento intercelular de CTL, así como 2) Potente citotoxicidad de la toxina Shiga en el citosol. Estos múltiples mecanismos citotóxicos pueden complementarse entre sí, por ejemplo proporcionando una destrucción de células diana tanto directa (por ejemplo, mediada por catálisis de toxina Shiga) como indirecta (por ejemplo, mediada por CTL).

[0696] La molécula de reconocimiento de células de la presente invención es citotóxica en ciertas concentraciones. Las moléculas que reconocen células de la presente invención se pueden usar en aplicaciones que implican mecanismos de destrucción celular indirectos (por ejemplo, mediante la interacción de células inmunitarias CD8+ intercelulares) y/o directos (por ejemplo, mediante actividad efectora de toxina intracelular). Debido a que las toxinas Shiga están adaptadas para destruir células eucariotas, las moléculas citotóxicas que reconocen las células diseñadas utilizando polipéptidos derivados de la subunidad A de la toxina Shiga pueden mostrar una potente actividad de destrucción celular. Las subunidades A de la toxina Shiga y sus derivados que comprenden dominios enzimáticos activos pueden destruir una célula eucariota una vez en el citosol de la célula. La fusión de una región de unión de reconocimiento de células y un péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogo con un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizado y resistente a la escisión por proteasa se puede lograr sin reducir significativamente la capacidad catalítica y actividades citotóxicas (ver Ejemplos, más adelante). Por lo tanto, las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden proporcionar al menos dos mecanismos redundantes de destrucción de células diana: (1) destrucción indirecta mediada por células inmunitarias como resultado de la administración heteróloga de carga de epítomo CD8+ por parte de la molécula de reconocimiento de células. de la presente invención y (2) destrucción directa a través de la(s) actividad(es) funcional(es) de un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención.

[0697] Las moléculas que reconocen células de la presente invención, al entrar en contacto con una célula objetivo acoplada físicamente con una biomolécula objetivo extracelular de la región de unión de la molécula, son capaces de causar la muerte de la célula objetivo. El mecanismo de destrucción celular puede ser directo, por ejemplo, a través de la actividad enzimática del polipéptido efector de la toxina Shiga, o indirecto a través de mecanismos mediados por células inmunitarias, por ejemplo, citólisis de células diana mediada por CTL, y puede realizarse en condiciones variadas de las células diana, tales como como una célula diana manipulada ex vivo, una célula diana cultivada in vitro, una célula diana dentro de una muestra de tejido cultivada in vitro o una célula diana in vivo.

[0698] La expresión de la biomolécula diana no necesita ser nativa para que una molécula de reconocimiento de células de la presente invención produzca la destrucción celular dirigida. La expresión en la superficie celular de la biomolécula diana podría ser el resultado de una infección, la presencia de un patógeno y/o la presencia de un patógeno microbiano intracelular. La expresión de una biomolécula diana podría ser artificial tal como, por ejemplo, mediante expresión forzada o inducida después de la infección con un vector de expresión viral, véase, por ejemplo, sistemas adenovirales, virales adenoasociados y retrovirales. Un ejemplo de inducción de la expresión de una biomolécula diana es la regulación positiva de la expresión de CD38 de células expuestas a retinoides, como el ácido todo-transretinoico y diversos retinoides sintéticos, o cualquier agonista del receptor del ácido retinoico (RAR) (Drach J et al., Cancer Res 54: 1746-52 (1994); Urano A et al., J Leukoc Biol 90: 235-47 (2011)). En otro ejemplo, la expresión de CD20, HER2 y EGFR puede inducirse exponiendo una célula a radiación ionizante (Wattenberg M et al., Br J Cancer 110: 1472-80 (2014)). Además, la expresión de PSMA está regulada positivamente en respuesta a la privación de andrógenos (véase, por ejemplo, Chang S et al., Cancer 88: 407-15 (2000); Meller B et al., EJNMMI Res 5: 66 (2015)).

[0699] Para ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, las moléculas que reconocen células son citotóxicas porque la administración de la carga de epítomo(s) de células T CD8+ heterólogas de la molécula da como resultado una presentación MHC de clase I del epítomo administrado. péptido(s) por la célula diana y muerte mediada por células inmunitarias de la célula diana.

[0700] Ciertas moléculas que reconocen células de la presente invención se pueden usar en aplicaciones que implican mecanismos indirectos de destrucción de células, tales como, por ejemplo, estimulación de la destrucción de células diana mediada por células inmunitarias CD8+. La presentación por parte de células diana de antígenos no propios inmunoestimuladores, tales como, por ejemplo, péptidos-epítomos virales conocidos con alta inmunogenicidad, puede indicar a otras células inmunitarias que destruyan las células diana y recluten más células inmunitarias en el sitio de la célula diana dentro de ellas. un organismo. Bajo ciertas condiciones, la presentación en la superficie celular de epítomos-péptidos CD8+ inmunogénicos por las dianas del complejo MHC clase I simula que el sistema inmunológico mata la célula presentadora para matarla mediante citólisis mediada por CTL CD8+.

[0701] Para ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, al poner en contacto una célula físicamente acoplada con una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula, la molécula de reconocimiento de células es capaz de causar indirectamente la muerte de la célula. tal como, por ejemplo, mediante la presentación de uno o más epítomos de células T por parte de la célula diana y el posterior reclutamiento de CTL.

[0702] Además, dentro de un cordado, la presentación por células diana de una carga de epítipo de células T CD8+ administrada por la molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede proporcionar la funcionalidad adicional de inmunestimulación al área local y/o romper la inmunotolerancia a ciertas células malignas en un área local y/o sistémicamente en todo el cordado.

[0703] Para las moléculas que reconocen células de la presente invención, al poner en contacto una célula físicamente acoplada con una biomolécula diana extracelular de la región de unión, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención es capaz de causar directamente la muerte de la célula, tal como, por ejemplo, a través de la actividad enzimática de un polipéptido efector de la toxina Shiga o un agente citotóxico descrito en el presente documento. Bajo ciertas condiciones, las moléculas que reconocen células de la presente invención son citotóxicas porque comprenden un componente polipeptídico efector de toxina Shiga catalíticamente activo que funciona tan rápidamente que impide la observación de cualquier resultado funcional de la administración de cualquier péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC clase I por la molécula de reconocimiento de las células; sin embargo, para estar incluida dentro del alcance de las moléculas que reconocen células reivindicadas, dicha molécula de reconocimiento de células debe ser capaz de suministrar una carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ desde un espacio extracelular a la vía de presentación de MHC de clase I de una célula al administración exógena.

[0704] La presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) describe además que una molécula citotóxica de reconocimiento de células de la presente invención que exhibe citotoxicidad basada en actividad catalítica del polipéptido efector de la toxina Shiga puede ser diseñada por el trabajador experto usando métodos de rutina para variantes enzimáticamente inactivas para reducir o eliminar la citotoxicidad basada en el efector de la toxina Shiga. La molécula de reconocimiento de células "inactivada" resultante puede o no seguir siendo citotóxica debido a su capacidad para administrar un epítipo heterólogo de células T CD8+ al sistema MHC de clase I de una célula diana y la posterior presentación de las células T CD8+ liberadas. péptido-epítipo por moléculas MHC de clase I en la superficie de la célula diana.

[0705] Para ciertas realizaciones, el(los) componente(s) polipeptídico(s) efector(es) de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) exhibe una citotoxicidad baja a nula y, por lo tanto, se hace referencia en el presente documento como "no -citotóxico y/o citotóxico reducido." Para determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) muestra una citotoxicidad baja a nula y puede denominarse variantes "no citotóxicas" y/o "citotóxicas reducidas". Por ejemplo, ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación no exhiben un nivel significativo de citotoxicidad basada en la toxina Shiga en donde a dosis de menos de 1.000 nM, 500 nM, 100 nM, 75 nM, 50 nM, no hay cantidad significativa de muerte celular en comparación con la molécula de referencia apropiada, tal como, por ejemplo, medida mediante un ensayo conocido por el experto y/o descrito en el presente documento. Para ciertas realizaciones adicionales, las moléculas multivalentes que reconocen células de la presente divulgación no exhiben ninguna toxicidad en dosis de 1 a 100 microgramos (µg) por kilogramo (kg) de un receptor mamífero. Las variantes de citotoxicidad reducida aún pueden ser citotóxicas en ciertas concentraciones o dosis pero exhiben una citotoxicidad reducida, tal como, por ejemplo, no son capaces de exhibir un nivel significativo de citotoxicidad de la toxina Shiga en ciertas situaciones. Ciertas moléculas que reconocen células de la presente divulgación pueden volverse no citotóxicas o citotóxicas reducidas, tal como, por ejemplo, mediante la adición de una o más sustituciones de aminoácidos conocidas por el experto para inactivar una subunidad A de la toxina Shiga y/o una subunidad A de la toxina Shiga. polipéptido efector de toxina, incluidas las sustituciones de ejemplo descritas en el presente documento. Las variantes no citotóxicas y citotóxicas reducidas de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación pueden ser, en determinadas situaciones, más adecuadas para administrar un epítipo de células T CD8+ heterólogo y/o materiales exógenos adicionales que variantes más citotóxicas.

[0706] El poder del sistema inmunológico puede aprovecharse para obtener beneficios terapéuticos mediante intervenciones que inducen reacciones inmunes similares a infecciones específicamente hacia células malignas (por ejemplo, células tumorales) y/o loci de tejido maligno (por ejemplo, tumores) dentro de un paciente específicamente, tales como, por ejemplo, utilizando un epítipo extraño altamente inmunogénico de un agente infeccioso para activar localmente una variedad de respuestas inmunes beneficiosas y marcar específicamente células diana (por ejemplo, células tumorales) como extrañas induciendo una imitación de un estado infectado. Alternativamente, este enfoque podría usar neoepítopos altamente inmunogénicos (derivados de agentes infecciosos o no infecciosos) o epítopos no propios altamente inmunogénicos derivados de agentes no infecciosos, tales como, por ejemplo, antígenos específicos de tumores, antígenos asociados a tumores, y moléculas de plantas, hongos, etc. Además, puede ser posible determinar qué células o tejidos se estimulan el sistema inmunológico mediante la elección de carga(s) de epítipo. Por ejemplo, utilizando antígenos tumorales endógenos, no propios (véase, por ejemplo, Boon T, van der Bruggen P, J Exp Med 183: 725-9 (1996); Vonderheide R et al., Immunity 10: 673-9 (1999) ; Van Der Bruggen P et al., Immunol Rev 188: 51-64 (2002); Schreurs M et al., Cancer Immunol Immunother 54: 703-12 (2005); Adotévi O et al., Clin Cancer Res 12: 3158 -67 (2006); Valentino M et al., J Immunol Methods 373: 111-26 (2011)) para marcar células objetivo puede inducir respuestas inmunes a células no objetivo que muestran el mismo epítipo tumoral o relacionado, mientras que se usan epítopos virales para marcar células objetivo. Las células en un paciente con cáncer no infectado

pueden limitar las respuestas inmunes solo a aquellas células a las que se les ha administrado y presentado el epítipo en cantidades suficientes y durante períodos de tiempo suficientes. Además, es posible determinar qué tipo de respuesta inmunitaria se induce mediante la elección de la(s) carga(s) de epítipo. Por ejemplo, el uso de antígenos tumorales endógenos, no propios, para marcar células diana puede inducir respuestas inmunitarias anticancerígenas a células no diana que muestran el mismo epítipo tumoral o uno relacionado, mientras que el uso de epítopos virales para marcar células diana en un paciente con cáncer no infectado puede limitar la actividad antitumoral. -respuestas inmunes de tipo viral solo a aquellas células a las que se les ha administrado y presentado el epítipo en cantidades suficientes y durante períodos de tiempo suficientes.

[0707] La presente divulgación proporciona métodos de inmunoterapia (que no son parte de la presente invención reivindicada) que implican administrar una carga de péptido-epítipo de células T CD8+ a una célula diana en un cordado y provocar una respuesta inmune, comprendiendo el método la etapa de administrar al cordado una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica descrita en el presente documento. Para determinadas realizaciones adicionales, la respuesta inmunitaria es una respuesta de células inmunitarias intercelulares seleccionadas del grupo que consiste en: secreción de citocina(s) por células inmunitarias CD8+, detención del crecimiento inducida por CTL en la célula diana, necrosis inducida por CTL de la célula diana, CTL apoptosis inducida de la célula diana, muerte celular no específica en un locus tisular, diseminación de epítopos intermoleculares, ruptura de la tolerancia inmunológica a un tipo de célula maligna y el cordado adquiere inmunidad persistente a un tipo de célula maligna (ver, por ejemplo, Matsushita H et al., *Cancer Immunol Res* 3: 26-36 (2015)). Estas respuestas inmunes pueden detectarse y/o cuantificarse usando técnicas conocidas por el experto. Por ejemplo, las células inmunitarias CD8+ pueden liberar citocinas inmunoestimulantes, como, por ejemplo, IFN- γ , factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), proteína 1 beta inflamatoria de macrófagos (MIP-1 β) e interleucinas como IL-17, IL-4, IL-22 e IL-2 (véanse, por ejemplo, Ejemplos, más adelante; Seder R et al., *Nat Rev Immunol* 8: 247-58 (2008)). El IFN- γ puede aumentar la expresión de la molécula MHC de clase I y sensibilizar las células neoplásicas a la destrucción celular mediada por CTL (Vlková V et al., *Oncotarget* 5: 6923-35 (2014)). Las citocinas inflamatorias pueden estimular células T espectadoras que albergan especificidades de TCR no relacionadas con la célula liberadora de citocinas (véase, por ejemplo, Tough D et al., *Science* 272: 1947-50 (1996)). Los CTL activados pueden destruir indiscriminadamente las células proximales a la célula presentadora del complejo epítipo-MHC de clase I independientemente del repertorio actual del complejo péptido-MHC de clase I de la célula proximal (Wiedemann A et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 10985-90 (2006)). Por lo tanto, para ciertas realizaciones adicionales, la respuesta inmune es una respuesta de células inmunes intercelulares seleccionadas del grupo que consiste en: destrucción de células proximales mediada por células inmunes donde la célula proximal no muestra ningún péptido-epítipo de células T CD8+ administrado por la célula. molécula diana de la presente invención e independientemente de la presencia de cualquier biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula diana celular físicamente acoplada a la(s) célula(s) proximal(es) que se destruye(n).

[0708] La presencia de epítopos no propios en células lisadas por CTL, ya sean células diana o células simplemente proximales a las células diana, puede ser reconocida y dirigida como extraña por el sistema inmunológico, incluido el reconocimiento de epítopos no propios en células diana mediante el mecanismo de propagación de epítopos intermoleculares (véase McCluskey J et al., *Immunol Rev* 164: 209-29 (1998); Vanderlugt C et al., *Immunol Rev* 164: 63-72 (1998); Vanderlugt C, Miller S, *Nat Rev Immunol* 2: 85-95 (2002)). Las células proximales pueden incluir células no neoplásicas, tales como, por ejemplo, fibroblastos asociados a cáncer, células madre mesenquimales, células endoteliales asociadas a tumores y células supresoras derivadas de mieloides inmaduras. Por ejemplo, una célula cancerosa puede albergar en promedio de 25 a 500 mutaciones no sinónimas en secuencias codificantes (ver, por ejemplo, Fritsch E et al., *Cancer Immunol Res* 2: 522-9 (2014)). Tanto las mutaciones conductoras como las no conductoras del cáncer son parte del panorama mutacional de una célula cancerosa que corresponde a numerosos epítopos no propios por célula y el tumor promedio puede poseer diez o más epítopos no propios (ver, por ejemplo, Segal N et al., *Cáncer Res* 68: 889-92 (2008)). Por ejemplo, las formas mutantes de la proteína tumoral p53 pueden contener epítopos no propios (véase, por ejemplo, Vigneron Net al., *Cancer Immun* 13: 15 (2013)). Además, la presencia de epítopos no propios, como las autoproteínas mutadas, puede dar lugar a la producción de células de memoria específicas de esos nuevos epítopos. Debido a que ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden aumentar el muestreo de células dendríticas en un locus de tejido objetivo, se puede aumentar la probabilidad de cebado cruzado del sistema inmunológico con antígenos intracelulares (véase, por ejemplo, Chiang C et al., *Expert Opin Biol Ther* 15: 569-82 (2015)). Por lo tanto, como resultado de la administración de moléculas que reconocen células de una carga de epítipo de células T CD8+ heteróloga y la presentación de MHC clase I de ese epítipo, el sistema inmunológico puede rechazar las células diana y otras células proximales que contienen epítopos no propios, incluyendo a través de epítopos no propios distintos de los epítopos administrados por una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. Dichos mecanismos podrían, por ejemplo, inducir inmunidad antitumoral contra células tumorales que no expresan la biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula diana a la célula.

[0709] Las respuestas inmunes que implican la secreción de citoquinas y/o la activación de células T pueden dar como resultado la modulación del inmunomicroambiente de un locus dentro de un cordado. La presente invención se puede usar para alterar el microambiente de un locus tisular dentro de un cordado con el fin de cambiar la homeostasis reguladora en células inmunes, tales como, por ejemplo, macrófagos asociados a tumores, células T, células T auxiliares, células presentadoras de antígenos y células asesinas naturales.

[0710] Para ciertas realizaciones, la presente invención se puede usar para mejorar la inmunidad de las células antitumorales en un sujeto cordado y/o para crear una inmunidad antitumoral persistente en un cordado, tal como, por ejemplo, debido al desarrollo de la memoria. Células T y/o alteraciones del microambiente tumoral.

[0711] Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, o composiciones farmacéuticas de las mismas, se pueden usar para "sembrar" un locus dentro de un cordado con células presentadoras de péptido-epítipo de células T CD8+ no propias con el fin de estimular el sistema inmunológico para controlar el locus con mayor fuerza y/o aliviar las señales inmunoinhibidoras, por ejemplo, señales que inducen anergia. En determinadas realizaciones adicionales, el locus es una masa tumoral o un sitio de tejido infectado. En determinadas realizaciones, el péptido-epítipo de células T CD8+ no propio se selecciona del grupo que consiste en: péptidos que aún no están presentados por las células diana de la molécula de reconocimiento de células, péptidos que no están presentes dentro de ninguna proteína expresada por la célula diana, péptidos no presentes dentro del proteoma de la célula diana, péptidos no presentes en el microambiente extracelular del sitio a sembrar y péptidos no presentes en la masa tumoral o en el sitio del tejido infectado al que se dirigirá.

[0712] El método de "siembra" descrito en el presente documento funciona para marcar una o más células diana dentro de un cordado con uno o más epítipos de células T CD8+ presentados por MHC de clase I (pMHC Is) para el reconocimiento intercelular por parte de células inmunes y la activación de respuestas inmunes posteriores. . Al explotar las funciones de internalización celular, enrutamiento intracelular y/o administración del epítipo MHC de clase I de las moléculas que reconocen células de la presente invención, las células diana que presentan el epítipo de células T CD8+ administrado pueden reconocerse mediante mecanismos de inmunovigilancia de células inmunes de cordados y dan como resultado la interacción intercelular de la célula diana presentadora por células T CD8+, tales como, por ejemplo, CTL. Este método de "siembra" de uso de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede estimular la muerte de células diana mediada por células inmunitarias independientemente de si presentan un epítipo(s) de células T administrado por una molécula de reconocimiento de células, tales como, por ejemplo, como resultado de la propagación intermolecular del epítipo y/o ruptura de la inmunotolerancia a la célula diana basada en la presentación de antígenos endógenos en contraposición a los epítipos administrados artificialmente. Este método de "siembra" de uso de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede proporcionar un efecto de vacunación (exposición a nuevos epítipos) y/o un efecto de dosis de refuerzo de vacunación (reexposición a epítipos) al inducir respuestas inmunes adaptativas a células dentro del microambiente sembrado, como, por ejemplo, una masa tumoral o un sitio de tejido infectado, basado en la detección de epítipos que son reconocidos como extraños por células T vírgenes y/o ya reconocibles como no propios (es decir, antígenos de recuperación) por células T de memoria. Este método de "siembra" también puede inducir la ruptura de la inmunotolerancia a una población de células diana, una masa tumoral, un sitio de tejido enfermo y/o un sitio de tejido infectado dentro de un cordado, ya sea de forma periférica o sistémica.

[0713] La presencia de células tumorales moribundas o necróticas en el sitio o loci dentro de un cordado puede dar como resultado un efecto de estimulación inmune localizado. Por ejemplo, las células tumorales moribundas o necróticas pueden liberar factores, tales como, por ejemplo, proteínas del grupo de alta movilidad y/o ATP, que a su vez pueden estimular la maduración inmunogénica de las células inmunitarias. La siembra de un locus tumoral también puede inducir o aumentar la expresión ectópica de proteínas ER (p. ej., calreticulina) en la membrana plasmática de las células tumorales, lo que a su vez puede promover/aumentar la presentación de antígenos de clase MHC y la fagocitosis de las células tumorales en ese sitio.

[0714] Ciertos métodos de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) que implican la siembra de un locus dentro de un cordado con uno o más epítipos de células T CD8+ antigénicos y/o inmunogénicos se pueden combinar con la administración de adyuvantes inmunológicos., ya sea administrado local o sistémicamente, para estimular la respuesta inmune a ciertos antígenos, tal como, por ejemplo, la coadministración de una composición de la presente invención con uno o más adyuvantes inmunológicos como una citoquina, un producto bacteriano o saponina vegetal. Otros ejemplos de adyuvantes inmunológicos que pueden ser adecuados para su uso en los métodos de la presente invención incluyen sales y aceites de aluminio, tales como, por ejemplo, alumbre, hidróxido de aluminio, aceites minerales, escualeno, aceites de parafina, aceites de maní y timerosal.

[0715] Ciertos métodos de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) implican promover la presentación cruzada inmunogénica y/o el cebado cruzado de células T CD8+ vírgenes en un cordado. Para ciertos métodos de la presente divulgación, el cebado cruzado se produce como resultado de la muerte, y/o la forma de muerte, de una célula diana causada por una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, de modo que la exposición de antígenos intracelulares en Se promueve la célula diana moribunda o muerta a mecanismos de inmunovigilancia.

[0716] Debido a que se pueden administrar múltiples epítipos heterólogos de células T CD8+ (ya sea como cargas o como regiones incluidas o incluidas de un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga) mediante una única molécula de reconocimiento de células de la presente invención, una única realización de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede ser terapéuticamente eficaz en diferentes cordados individuales de la misma especie con diferentes variantes de molécula de clase MHC I, tal como, por ejemplo, en

humanos con diferentes alelos HLA. Esta capacidad de ciertas realizaciones de la presente invención puede permitir la combinación dentro de una única molécula de reconocimiento de células de diferentes epítomos-peptidos de células T CD8+ con diferente efectividad terapéutica en diferentes subpoblaciones de sujetos según la diversidad y los polimorfismos de las moléculas del MHC de clase I. . Por ejemplo, las moléculas del MHC humano de clase I, las proteínas HLA, varían entre los humanos según su ascendencia genética, por ejemplo, africana (subsahariana), amerindia, caucasoide, mongoloide, neoguineana y australiana, o isleña del Pacífico.

[0717] Las moléculas que reconocen células de la presente invención que pueden administrar epítomos de células T CD8+ heterólogas de antígenos de CMV pueden ser particularmente efectivas porque la mayoría de la población humana tiene conjuntos específicos de células T CD8+ preparadas para reaccionar con antígenos de CMV y están reprimiendo constantemente las infecciones crónicas por CMV para permanecer asintomáticas durante toda su vida. Además, los seres humanos de edad avanzada pueden reaccionar aún más rápida y fuertemente a los epítomos de células T CD8+ del CMV debido a cambios relacionados con la edad en el sistema inmune adaptativo con respecto al CMV, como, por ejemplo, una vigilancia inmune potencialmente más enfocada hacia el CMV y como lo demuestran la composición del repertorio de receptores de antígenos de células T y los niveles relativos de CTL en seres humanos más ancianos (véase, por ejemplo, Koch S et al., Ann NY Acad Sci 1114: 23-35 (2007); Vescovini R et al., J Immunol 184: 3242-9 (2010); Cicin-Sain L et al., J Immunol 187: 1722-32 (2011); Fülöp T et al., Front Immunol 4: 271 (2013); Pawelec G, Exp Gerontol 54: 1- 5 (2014)).

C. Citotoxicidad selectiva entre tipos de células

[0718] Las moléculas que reconocen células de la presente invención tienen usos en la destrucción selectiva de células diana específicas en presencia de células espectadoras no dirigidas. Al dirigir la suministro de cargas de epítomos de células T CD8+ inmunogénicas a la vía MHC clase I de las células diana, la presentación posterior de epítomos de células T CD8+ suministrados y la regulación específica de TCR de la citólisis mediada por CTL de las células diana presentadoras de epítomos pueden limitarse a destruir preferentemente tipos de células seleccionadas en presencia de células no objetivo. Además, la destrucción de células diana mediante la potente actividad citotóxica de diversos polipéptidos efectores de toxina Shiga puede limitarse a destruir preferentemente células diana con la administración simultánea de una carga de epítomo de células T inmunogénicas y un polipéptido efector de toxina citotóxica.

[0719] Para ciertas realizaciones, tras la administración de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención a una mezcla de tipos de células, la molécula de reconocimiento de células es capaz de destruir selectivamente aquellas células que están físicamente acopladas con una biomolécula diana extracelular en comparación con tipos de células no acopladas físicamente con una biomolécula diana extracelular.

[0720] Para ciertas realizaciones, tras la administración de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención a una mezcla de tipos de células, la molécula de reconocimiento de células citotóxica es capaz de destruir selectivamente aquellas células que están físicamente acopladas con una biomolécula diana extracelular en comparación con a tipos de células no acopladas físicamente con una biomolécula diana extracelular. Para ciertas realizaciones, la molécula citotóxica de reconocimiento de células de la presente invención es capaz de causar selectiva o preferentemente la muerte de un tipo de célula específico dentro de una mezcla de dos o más tipos de células diferentes. Esto permite dirigir la actividad citotóxica a tipos de células específicos con una alta preferencia, como un efecto citotóxico triple, sobre los tipos de células "espectadores" que no expresan la biomolécula objetivo. Alternativamente, la expresión de la biomolécula diana de la región de unión puede no ser exclusiva de un tipo de célula si la biomolécula diana se expresa en cantidades suficientemente bajas y/o se acopla físicamente en cantidades bajas con tipos de células que no van a ser diana. Esto permite la destrucción celular dirigida de tipos de células específicos con una alta preferencia, como un efecto citotóxico triple, sobre tipos de células "espectadores" que no expresan cantidades significativas de la biomolécula objetivo o que no están físicamente acopladas a moléculas significativas. cantidades de la biomolécula objetivo.

[0721] Para ciertas realizaciones adicionales, tras la administración de la molécula citotóxica de reconocimiento de células a dos poblaciones diferentes de tipos de células, la molécula citotóxica de reconocimiento de células es capaz de causar la muerte celular como se define por la concentración citotóxica media máxima (CD_{50}) en una población de células diana, cuyos miembros expresan una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula citotóxica de reconocimiento de células, a una dosis al menos tres veces menor que la dosis de CD_{50} de la misma molécula citotóxica de reconocimiento de células para una población de células cuyos miembros no expresan una biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula citotóxica de reconocimiento de células.

[0722] Para ciertas realizaciones, la actividad citotóxica de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención hacia poblaciones de tipos de células físicamente acopladas con una biomolécula diana extracelular es al menos 3 veces mayor que la actividad citotóxica hacia poblaciones de tipos de células. no acoplado físicamente con ninguna biomolécula diana extracelular de la región de unión. Según la presente invención, la citotoxicidad selectiva se puede cuantificar en términos de la relación (a/b) de (a) citotoxicidad hacia una población de células de un tipo de célula específico acopladas físicamente con una biomolécula diana de la región de unión a (b) citotoxicidad hacia una población de células de un tipo celular no acoplado físicamente con una biomolécula diana de la región de unión. Para determinadas realizaciones, la relación de citotoxicidad es indicativa de citotoxicidad selectiva que es al menos 3

veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 25 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 75 veces, 100 veces, 250 veces, 500 veces, 750 veces o 1000 veces mayor para poblaciones de células o tipos de células acopladas físicamente con una biomolécula diana de la región de unión en comparación con poblaciones de células o tipos de células no acopladas físicamente con una biomolécula diana de la región de unión.

[0723] Para ciertas realizaciones, la función de destrucción celular preferencial o la citotoxicidad selectiva de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención se debe a un material exógeno adicional (por ejemplo, un material citotóxico) y/o un epítipo de células T CD8+ heterólogo presente en la molécula de reconocimiento de células de la presente invención y no necesariamente como resultado de la actividad catalítica de un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de células.

[0724] Es importante señalar que para ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, tras la administración de la molécula de reconocimiento de células a un cordado, la molécula de reconocimiento de células puede causar la muerte de células no dirigidas que están en la vecindad de una célula diana y/o que están relacionados con una célula diana compartiendo una condición maligna común. La presentación de ciertos epítopos de células T por células diana dentro de un cordado puede dar como resultado la muerte de las células diana mediada por CTL, así como la muerte de otras células que no presentan el epítipo administrado pero que se encuentran en las proximidades de las células presentadoras del epítipo. Además, la presentación de ciertos epítopos de células T por parte de células tumorales específicas dentro de un cordado puede dar como resultado la diseminación intermolecular del epítipo, la reprogramación del microambiente tumoral para condiciones estimulantes, la liberación de células inmunes existentes de la anergia o la eliminación de la desensibilización al objetivo. células o tejidos dañados que las comprenden, y superar el estado fisiológico de tolerancia del sistema inmune del sujeto a antígenos tumorales no propios (ver Sección X. Métodos para usar una molécula de reconocimiento de células, etc., más adelante).

[0725] La administración de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención a un cordado se puede usar in vivo para "limpiar" tipos de células específicas, tal como, por ejemplo, a través de la acción/estimulación del sistema inmunológico como en la forma de dirigirse a células específicas. CTL restringidos por epítipo para destruir tipos de células diana y/u otros tipos de células que presentan el epítipo, ya sea que el epítipo haya sido administrado por la molécula de reconocimiento de las células o ya esté presente antes de la administración.

D. Suministro de material exógeno adicional al interior de una célula objetivo

[0726] Además de la destrucción celular directa, las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden usarse de manera opcional para la administración de materiales exógenos adicionales al interior de las células diana. La administración de materiales exógenos adicionales puede usarse, por ejemplo, para funciones citotóxicas, citostáticas, de estimulación del sistema inmunitario, de localización de células inmunitarias, de recopilación de información y/o de diagnóstico. Se pueden usar variantes no citotóxicas de las moléculas citotóxicas que reconocen células descritas en el presente documento, u de manera opcional variantes tóxicas, para administrar materiales exógenos adicionales y/o marcar los interiores de las células físicamente acopladas con una biomolécula diana extracelular de la molécula de reconocimiento de células. Las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden dirigirse a diversos tipos de células y/o poblaciones celulares que expresan biomoléculas diana en al menos una superficie celular para recibir materiales exógenos.

[0727] Debido a que las moléculas que reconocen células de la presente invención son capaces de entrar en células físicamente acopladas con una biomolécula diana extracelular reconocida por su región de unión, las moléculas que reconocen células se pueden usar para administrar materiales exógenos adicionales al interior de la célula objetivo. - tipos. En cierto sentido, toda la molécula de reconocimiento de las células de la divulgación es un material exógeno que entrará en la célula; por lo tanto, los materiales exógenos "adicionales" son materiales heterólogos unidos pero distintos de la propia molécula central de reconocimiento de las células. Las moléculas no tóxicas que reconocen células de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) que comprenden un péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ que no estimulan la destrucción celular mediada por CTL en determinadas situaciones pueden seguir siendo útil para administrar un péptido-epítipo de células T CD8+ "benigno" que no produce la muerte celular tras la presentación del MHC de clase I pero permite la recopilación de información, como, por ejemplo, sobre la función del sistema inmunológico en un individuo, MHC expresión de variante de clase I y operatividad del sistema MHC de clase I en una determinada célula.

[0728] "Material exógeno adicional" como se usa en el presente documento se refiere a una o más moléculas, a menudo no presentes generalmente dentro de una célula diana nativa y/o presentes en niveles indeseablemente bajos, donde las proteínas de la presente invención se pueden usar para transportar específicamente tales material al interior de una célula. Ejemplos no limitantes de materiales exógenos adicionales son agentes citotóxicos, péptidos, polipéptidos, proteínas, polinucleótidos, agentes promotores de la detección y agentes quimioterapéuticos de molécula pequeña.

[0729] En ciertas realizaciones de las proteínas de la presente divulgación para la administración de material exógeno adicional, el material exógeno adicional es un agente citotóxico, tal como, por ejemplo, un agente quimioterapéutico

de molécula pequeña, un antibiótico citotóxico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor de la topoisomerasa. y/o inhibidor de tubulina. Los ejemplos no limitantes de agentes citotóxicos incluyen aziridinas, cisplatino, tetrazinas, procarbazona, hexametilmelamina, alcaloides de la vinca, taxanos, camptotecinas, etopósido, doxorubicina, mitoxantrona, tenipósido, novobiocina, aclarrubicina, antraciclinas, actinomicina, bleomicina, plicamicina, mitomicina, daunorrubicina, epirubicina., idarrubicina, dolastatinas, maitansinas, docetaxel, adriamicina, caliqueamicina, auristatinas, pirrolobenzodiazepina, carboplatino, 5-fluorouracilo (5-FU), capecitabina, mitomicina C, paclitaxel, 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea (BCNU), rifampicina, cisplatino, metotrexato y gemcitabina.

[0730] En ciertas realizaciones de la divulgación, el material exógeno adicional comprende una proteína o polipéptido que comprende una enzima. En ciertas otras realizaciones, el material exógeno adicional es un ácido nucleico, tal como, por ejemplo, un ácido ribonucleico que funciona como un pequeño ARN inhibidor (ARNip) o microARN (miARN). En determinadas realizaciones, el material exógeno adicional es un antígeno, tal como antígenos derivados de proteínas bacterianas, proteínas virales, proteínas mutadas en cáncer, proteínas expresadas de forma aberrante en cáncer o regiones determinantes de complementariedad de células T. Por ejemplo, los materiales exógenos incluyen antígenos, tales como los característicos de las células presentadoras de antígenos infectadas por bacterias, y regiones determinantes complementarias de células T capaces de funcionar como antígenos exógenos. Ejemplos adicionales de materiales exógenos incluyen polipéptidos y proteínas más grandes que un péptido antigénico, como las enzimas.

[0731] En ciertas realizaciones de la divulgación, el material exógeno adicional comprende un péptido, polipéptido o proteína proapoptótico, tal como, por ejemplo, BCL-2, caspasas (por ejemplo, fragmentos de caspasa-3 o caspasa-6), citocromos, granzima. B, factor inductor de apoptosis (AIF), BAX, tBid (Bid truncado) y fragmentos proapoptóticos o derivados de los mismos (véase, por ejemplo, Ellerby H et al., Nat Med 5: 1032-8 (1999); Mai J et al., Cancer Res 61: 7709-12 (2001); Jia L et al., Cancer Res 63: 3257-62 (2003); Liu Y et al., Mol Cancer Ther 2: 1341-50 (2003); Perea S et al., Cancer Res 64: 7127-9 (2004); Xu Y et al., J Immunol 173: 61-7 (2004); Dälken B et al., Cell Death Differ 13: 576-85 (2006); Wang T et al., Cancer Res 67: 11830-9 (2007); KwonM et al., Mol Cancer Ther 7: 1514-22 (2008); Shan L et al., Cancer Biol Ther 11: 1717-22 (2008) ; Qiu X et al., Mol Cancer Ther 7: 1890-9 (2008); Wang F et al., Clin Cancer Res 16: 2284-94 (2010); Kim J et al., J Virol 85: 1507-16 (2011)).

[0732] Ciertos polipéptidos efectores de la toxina Shiga de actividad reducida pueden ser particularmente útiles para administrar un material exógeno adicional a ciertas ubicaciones intracelulares o compartimentos subcelulares de células diana.

E. Recopilación de información para funciones de diagnóstico

[0733] Las moléculas que reconocen células de la presente divulgación se pueden usar para funciones de recopilación de información. Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación se pueden usar para obtener imágenes de células presentadoras de pMHC I específicas usando anticuerpos específicos para pMHC Is que reconocen un péptido-epitopo de células T CD8+ heterólogo (administrado por una molécula de reconocimiento de células de la presente invención) forma complejo con una molécula de MHC de clase I en una superficie celular. Además, ciertas moléculas que reconocen células de la presente divulgación tienen usos en la detección in vitro y/o in vivo de células, tipos de células y/o poblaciones de células específicas. Las moléculas que reconocen células descritas en el presente documento pueden usarse tanto para diagnóstico como para tratamiento, o solo para diagnóstico.

[0734] La capacidad de conjugar agentes promotores de la detección conocidos en la técnica con diversas moléculas que reconocen células de la presente divulgación proporciona composiciones útiles para la detección de cáncer, tumores, anomalías del crecimiento, células inmunes e infectadas. Estas moléculas de diagnóstico que reconocen células de la divulgación se pueden usar para recopilar información mediante diversas técnicas y ensayos de imágenes conocidos en la técnica. Por ejemplo, las moléculas de diagnóstico que reconocen células de la divulgación se pueden usar para la recopilación de información mediante imágenes de orgánulos intracelulares (por ejemplo, compartimentos endocíticos, de Golgi, retículo endoplásmico y citosólico) de células cancerosas individuales, células inmunitarias o células infectadas en un paciente o muestra de biopsia.

[0735] Se pueden recopilar diversos tipos de información utilizando las moléculas de diagnóstico que reconocen células de la divulgación, ya sea para usos de diagnóstico u otros usos . Esta información puede ser útil, por ejemplo, para diagnosticar subtipos de células neoplásicas, determinar la vía del MHC de clase I y/o la funcionalidad del sistema TAP en tipos de células específicos, determinar cambios en la vía del MHC de clase I y/o la funcionalidad del sistema TAP en tipos de células específicos. en el tiempo, determinar las susceptibilidades terapéuticas de la enfermedad de un paciente, ensayar la progresión de terapias antineoplásicas en el tiempo, ensayar la progresión de terapias inmunomoduladoras en el tiempo, ensayar la progresión de terapias antimicrobianas en el tiempo, evaluar la presencia de células infectadas en materiales de trasplante, evaluar la presencia de tipos de células no deseadas en materiales de trasplante y/o evaluar la presencia de células tumorales residuales después de la escisión quirúrgica de una masa tumoral.

[0736] Por ejemplo, se podrían determinar subpoblaciones de pacientes usando información recopilada usando las variantes de diagnóstico de las moléculas que reconocen células de la divulgación, y a continuación los pacientes individuales podrían categorizarse en subpoblaciones en función de sus características únicas reveladas usando esos diagnósticos. moléculas. Por ejemplo, la eficacia de terapias o productos farmacéuticos específicos podría ser un tipo de criterio utilizado para definir una subpoblación de pacientes. Por ejemplo, se puede usar una variante de diagnóstico no tóxica de una molécula citotóxica específica de reconocimiento de células de la divulgación para diferenciar qué pacientes están en una clase o subpoblación de pacientes que se predice que responderán positivamente a una variante citotóxica de la misma molécula de reconocimiento de células. molécula de la presente invención. Por consiguiente, en el presente documento se describen métodos asociados para la identificación de pacientes, la estratificación de pacientes y el diagnóstico utilizando moléculas que reconocen células de la presente invención, o variantes no tóxicas de moléculas citotóxicas que reconocen células de la presente invención, pero no forman parte de la presente invención reivindicada. .

IV. Variaciones en la secuencia polipeptídica de los componentes proteicos de las moléculas que reconocen células de la presente invención

[0737] El trabajador experto reconocerá que se pueden hacer variaciones a las moléculas que reconocen células de la presente invención descritas anteriormente, y a los polinucleótidos que codifican cualquiera de las primeras, dentro del alcance de las reivindicaciones, sin disminuir sus actividades biológicas, por ejemplo, mediante mantener la estructura y función generales de las moléculas que reconocen las células al administrar sus cargas de epítopos de células T CD8+ heterólogas a las vías de presentación del MHC de clase I de las células diana después de la administración exógena a las células diana. Por ejemplo, algunas modificaciones pueden facilitar la expresión, facilitar la purificación, mejorar las propiedades farmacocinéticas y/o mejorar la inmunogenicidad. Dichas modificaciones son bien conocidas por el experto e incluyen, por ejemplo, una metionina añadida en el extremo amino para proporcionar un sitio de iniciación, aminoácidos adicionales colocados en cualquiera de los extremos para crear sitios de restricción o codones de terminación convenientemente ubicados, y etiquetas de afinidad bioquímica fusionadas. a cualquiera de los extremos para proporcionar una detección y/o purificación conveniente. Una modificación común para mejorar la inmunogenicidad de un polipéptido es eliminar, después de la producción del polipéptido, el residuo de metionina inicial, que puede ser formilado durante la producción en un sistema huésped bacteriano, debido a que, por ejemplo, la presencia de N-formilmetionina (fMet) podría inducir respuestas inmunes indeseables en los cordados.

[0738] En ciertas variaciones de realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, cierta funcionalidad de reconocimiento de células de la región de unión debe mantenerse de modo que la especificidad y selectividad de la unión a la biomolécula objetivo se conserve significativamente. En ciertas variaciones de realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, es posible que sea necesario conservar ciertas actividades biológicas del polipéptido efector de la toxina Shiga, por ejemplo, inducir la internalización celular, el enrutamiento intracelular a ciertos compartimentos subcelulares (como compartimentos competentes para la entrada en el vía MHC clase I) y/o capacidad para suministrar material(es) exógeno(s) a ciertos compartimentos subcelulares de las células diana.

[0739] También se contempla en el presente documento la inclusión de residuos de aminoácidos adicionales en los extremos amino y/o carboxi, tales como secuencias para etiquetas bioquímicas u otros restos. Los residuos de aminoácidos adicionales pueden usarse para diversos fines que incluyen, por ejemplo, facilitar la clonación, expresión, modificación postraduccional, síntesis, purificación, detección y/o administración. Ejemplos no limitantes de etiquetas y restos bioquímicos son: dominios de proteína de unión a quitina, sitios de escisión por enteropeptidasa, sitios de escisión por factor Xa, etiquetas FIAsh, etiquetas FLAG, proteínas fluorescentes verdes (GFP), restos de glutatión-S-transferasa, etiquetas HA, unión a maltosa dominios de proteínas, etiquetas myc, etiquetas de polihistidina, etiquetas ReAsH, etiquetas estreptocócicas, etiquetas estreptocócicas II, sitios de proteasa TEV, dominios de tiorredoxina, sitios de escisión por trombina y etiquetas de epítopos V5.

[0740] En algunas de las realizaciones anteriores, la secuencia de proteínas de las moléculas que reconocen células de la presente invención, o componentes polipeptídicos de las mismas, se varían mediante una o más sustituciones de aminoácidos conservadoras introducidas en los componentes proteicos o polipeptídicos, dentro del alcance de las reivindicaciones, siempre y cuando la molécula de reconocimiento de células conserve la capacidad de suministrar su carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ a un sistema de presentación de MHC clase I de una célula diana después de la administración exógena a las células diana de manera que la la administración y/o la presentación del MHC clase I en la superficie celular del epítipo de células T CD8+ administrado es detectable usando un ensayo conocido por el experto y/o descrito en el presente documento.

[0741] Tal como se usa en el presente documento, el término "sustitución conservadora" denota que uno o más aminoácidos se reemplazan por otro residuo de aminoácido biológicamente similar. Los ejemplos incluyen sustitución de residuos de aminoácidos con características similares, por ejemplo aminoácidos pequeños, aminoácidos ácidos, aminoácidos polares, aminoácidos básicos, aminoácidos hidrófobos y aminoácidos aromáticos (véase, por ejemplo, la Tabla B, más adelante). Un ejemplo de una sustitución conservadora con un residuo que normalmente no se encuentra en péptidos y proteínas endógenos de mamíferos es la sustitución conservadora de un residuo de arginina o lisina con, por ejemplo, ornitina, canavanina, aminoetilcisteína u otro aminoácido básico. Para obtener más información

sobre sustituciones fenotípicamente silenciosas en péptidos y proteínas, véase, por ejemplo, Bowie J et al., Science 247: 1306-10 (1990).

TABLA B. Ejemplos de sustituciones conservativas de aminoácidos

5

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
A	D	H	C	F	N	A	C	F	A	C	A	A	D
G	E	K	I	W	Q	G	M	H	C	D	C	C	E
P	Q	R	L	Y	S	I	P	W	F	E	D	D	G
S	N		M		T	L		Y	G	H	G	E	K
T			V			V			H	K	N	G	P
									I	N	P	H	Q
									L	Q	S	K	R
									M	R	T	N	S
									R	S	T	Q	T
									T	T		R	
									V			S	
									W			P	
									Y			T	

10

[0742] En el esquema de sustitución conservadora en la Tabla B anterior, las sustituciones conservadoras de ejemplo de aminoácidos se agrupan por propiedades fisicoquímicas - I: neutra, hidrófila; II: ácidos y amidas; III: básico; IV: hidrófobo; V: aminoácidos aromáticos, voluminosos, VI hidrofílicos sin carga, VII alifáticos sin carga, VIII no polares sin carga, IX asociados a cicloalqueno, X hidrofóbicos, XI polares, XII pequeños, XIII que permiten giros y XIV flexibles. Por ejemplo, las sustituciones de aminoácidos conservadoras incluyen las siguientes: 1) S puede sustituirse por C; 2) M o L pueden sustituirse por F; 3) Y puede sustituirse por M; 4) Q o E pueden sustituirse por K; 5) N o Q pueden sustituirse por H; y 6) H puede sustituirse por N.

15

[0743] En ciertas realizaciones, las moléculas que reconocen células de la presente invención (por ejemplo, proteínas de fusión que reconocen células) pueden comprender fragmentos funcionales o variantes de una región polipeptídica de la presente invención que tiene, como máximo, 20, 15, 10, 9, sustituciones de 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 residuo de aminoácido en comparación con una secuencia polipeptídica citada en el presente documento, siempre que la molécula de reconocimiento de células que la comprende sea capaz de administrar sus células T CD8+ heterólogas. carga de epítipo a una vía de presentación de MHC clase I de una célula diana. Las variantes de las moléculas que reconocen células de la presente invención están dentro del alcance de la presente invención como resultado de cambiar un componente polipeptídico de la proteína de reconocimiento de células de la presente invención alterando uno o más aminoácidos o eliminando o insertando uno o más aminoácidos. ácidos, tales como dentro de la región de unión o el componente polipeptídico efector de la toxina Shiga, para lograr las propiedades deseadas, tales como citotoxicidad modificada, efectos citostáticos modificados, inmunogenicidad modificada y/o vida media en suero modificada. Una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o un componente polipeptídico de la misma, puede además tener o sin una secuencia señal.

20

25

30

[0744] Por consiguiente, en ciertas realizaciones, la región de unión de las moléculas que reconocen células de la presente invención comprende o consiste esencialmente en secuencias de aminoácidos que tienen al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,7 % de identidad de secuencia general con una región de unión citada en el presente documento o ya conocida de otro modo en comparación con una secuencia alineada en la que la alineación se realiza mediante un programa de homología por computadora conocido en la técnica, siempre que la región de unión exhiba, como componente de la molécula de reconocimiento de células, una cantidad razonable de especificidad y afinidad de unión a la biomolécula diana extracelular, tal como, por ejemplo, exhibiendo una KD_a la biomolécula diana de 10^{-5} a 10^{-12} moles/litro.

35

40

45

[0745] En ciertas realizaciones, la región polipeptídica efectora de la toxina Shiga de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada) comprende o consiste esencialmente en secuencias de aminoácidos que tienen al menos 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,7 % de identidad de secuencia global con una toxina natural, tal como, por ejemplo, toxina Shiga Una Subunidad, tal como cualquiera de las SEQ ID NO: 1-18, cuando se compara con una secuencia alineada en la que el alineamiento se realiza mediante un programa de homología por computadora conocido en la técnica, siempre que el polipéptido efector de la toxina Shiga presente, como un componente de la molécula de reconocimiento de las células, el nivel requerido de las funciones efectoras de la toxina Shiga relacionadas con la administración intracelular de la carga heteróloga de epítopos de células T CD8+ de la molécula de reconocimiento de las células a la vía de presentación del MHC de clase I de al menos una tipo de célula diana.

50

[0746] En ciertas realizaciones, los componentes polipeptídicos efectores de la toxina Shiga de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada) pueden alterarse para cambiar la actividad enzimática y/o la citotoxicidad del efector de la toxina Shiga. polipéptido, siempre que el polipéptido efector de la toxina Shiga presente, como componente de la molécula de reconocimiento de las células, el

nivel requerido de la(s) función(es) efectora(s) de la toxina Shiga relacionadas con la administración intracelular del epítipo de células T CD8+ de la molécula de reconocimiento de las células carga a la vía de presentación del MHC clase I de al menos un tipo de célula diana. Este cambio puede dar como resultado o no un cambio en la citotoxicidad del polipéptido efector de la toxina Shiga o de la molécula de reconocimiento de células de la cual el polipéptido efector de la toxina Shiga alterado es un componente. Tanto la actividad enzimática como la citotoxicidad de la toxina Shiga pueden alterarse, reducirse o eliminarse mediante mutación o truncamiento. Las posibles alteraciones incluyen mutaciones en el polipéptido efector de la toxina Shiga seleccionado del grupo que consiste en: un truncamiento, delección, inversión, inserción, reordenamiento y sustitución siempre que el polipéptido efector de la toxina Shiga conserve, como componente de la molécula de reconocimiento de las células, el nivel requerido de la(s) función(es) efectora(s) de la toxina Shiga relacionada con la administración intracelular de la carga heteróloga de epítipo de células T CD8+ de la molécula de reconocimiento de la célula a la vía de presentación del MHC de clase I de al menos un tipo de célula diana.

[0747] La citotoxicidad de las subunidades A de miembros de la familia de toxinas Shiga puede alterarse, reducirse o eliminarse mediante mutación o truncamiento. Las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) comprenden cada una una región polipeptídica efectora de la subunidad A de la toxina Shiga que proporciona a cada molécula de reconocimiento de células la capacidad de administrar la molécula heteróloga CD8+ T- carga de epítipo celular a la vía de presentación del MHC clase I de al menos un tipo de célula diana independientemente de la actividad catalítica del polipéptido efector de la toxina Shiga. Como se muestra en los Ejemplos a continuación, la actividad catalítica y la citotoxicidad de los polipéptidos efectores de la toxina Shiga pueden desacoplarse de otras funciones efectoras de la toxina Shiga requeridas para proporcionar una molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación con la capacidad de administrar una proteína T CD8+ fusionada y heteróloga. -epítipo celular de la vía de presentación del MHC clase I de un tipo de célula diana. Por lo tanto, en ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada), el componente polipeptídico efector de la toxina Shiga está diseñado para exhibir una citotoxicidad de la toxina Shiga disminuida o abolida, tal como, por ejemplo, debido a la presencia de mutaciones de residuos de aminoácidos en relación con una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje en uno o más residuos clave implicados en la actividad enzimática. Esto proporciona moléculas que reconocen las células que no matan las células objetivo directamente a través de la función de citotoxicidad de la toxina Shiga. Dichas moléculas que reconocen células, que carecen de regiones polipeptídicas efectoras de la toxina Shiga citotóxica, son útiles para efectuar 1) la destrucción celular mediante la administración de un péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ para la presentación de MHC de clase I por una célula diana, 2) la estimulación de respuestas deseables de células inmunitarias intercelulares a células diana como resultado de la administración de un péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ al sistema MHC de clase I de células diana, y/o 3) el marcaje de células diana con complejos específicos de péptido-epítipo de células T CD8+/molécula MHC de clase I cuando la célula diana no tiene defectuosa la maquinaria necesaria para hacerlo.

[0748] La actividad catalítica y/o citotóxica de las subunidades A de miembros de la familia de toxinas Shiga puede disminuirse o eliminarse mediante mutación o truncamiento. Los residuos más críticos para la actividad enzimática y/o citotoxicidad en las subunidades A de la toxina Shiga se han asignado a las siguientes posiciones de residuos: asparagina-75, tirosina-77, glutamato-167, arginina-170, arginina-176 y triptófano- 203 entre otros (Di R et al., *Toxicon* 57: 525-39 (2011)). En particular, una construcción doble mutante de Stx2A que contenía mutaciones de glutamato-E167 a lisina y arginina-176 a lisina se inactivó por completo; mientras que muchas mutaciones únicas en Stx1 y Stx2 mostraron una reducción de 10 veces en la citotoxicidad. Se ha demostrado que las posiciones marcadas tirosina-77, glutamato-167, arginina-170, tirosina-114 y triptófano-203 son importantes para la actividad catalítica de Stx, Stx1 y Stx2 (Hovde C et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 2568-72 (1988); Deresiewicz R et al., *Biochemistry* 31: 3272-80 (1992); Deresiewicz R et al., *Mol Gen Genet* 241: 467-73 (1993); Ohmura M et al., *Microb Pathog* 15: 169-76 (1993); Cao C et al., *Microbiol Immunol* 38: 441-7 (1994); Suhan M, Hovde C, *Infect Immun* 66: 5252-9 (1998)). La mutación tanto del glutamato-167 como de la arginina-170 eliminó la actividad enzimática de Slt-I A1 en un ensayo de inactivación de ribosomas libres de células (LaPointe P et al., *J Biol Chem* 280: 23310-18 (2005)). En otro enfoque que utiliza la expresión de novo de Slt-I A1 en el retículo endoplásmico, la mutación tanto del glutamato-167 como de la arginina-170 eliminó la citotoxicidad del fragmento Slt-I A1 en ese nivel de expresión (LaPointe P et al., *J Biol Chem* 280: 23310). -18 (2005)).

[0749] Además, el truncamiento de Stx1A a 1-239 o 1-240 redujo su citotoxicidad y, de manera similar, el truncamiento de Stx2A a un residuo hidrofóbico conservado redujo su citotoxicidad. Los residuos más críticos para la unión de ribosomas eucarióticos y/o la inhibición de ribosomas eucarióticos en la subunidad A de la toxina Shiga se han asignado a las siguientes posiciones de residuos: arginina-172, arginina-176, arginina-179, arginina-188, tirosina-189, valina. -191, y leucina-233 entre otros (McCluskey A et al., *PLoS One* 7: e31191 (2012)).

[0750] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada), el polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga derivado de o que comprende un componente derivado de una subunidad A de la toxina Shiga (por ejemplo, cualquiera de SEQ ID NO: 1-18) comprende una alteración de una secuencia polipeptídica de la toxina Shiga de tipo salvaje, tal como, por ejemplo, una o más de las siguientes sustituciones de residuos de aminoácidos: asparagina en la posición 75, tirosina en la posición 77, tirosina en la posición 114, glutamato en la posición 167, arginina en la posición 170, arginina en la

posición 176, triptófano en la posición 202 y/o sustitución del triptófano en la posición 203. El trabajador experto conocerá ejemplos de tales sustituciones basándose en la técnica anterior, tales como asparagina en la posición 75 por alanina, tirosina en la posición 77 por serina, sustitución de la tirosina en la posición 114 por alanina, sustitución del glutamato en la posición 167 por aspartato, sustitución de arginina en la posición 170 por alanina, sustitución de la arginina en la posición 176 por lisina y/o sustitución del triptófano en la posición 203 por alanina. Otras mutaciones que mejoran o reducen la actividad enzimática y/o la citotoxicidad del polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga se describen en el presente documento (pero no están dentro del alcance de la presente invención) y pueden determinarse usando técnicas y ensayos bien conocidos descritos en el presente documento.

[0751] En ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o un componente proteico de la misma, comprende una o más modificaciones postraduccionales, tales como, por ejemplo, fosforilación, acetilación, glicosilación, amidación, hidroxilación y/o metilación (véase, por ejemplo, Nagata K et al., *Bioinformatics* 30: 1681-9 (2014)).

[0752] En ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente divulgación (que no son parte de la presente invención reivindicada), se pueden mutar, insertar o eliminar uno o más residuos de aminoácidos para aumentar la actividad enzimática de la Región del polipéptido efector de la toxina Shiga, siempre que la molécula de reconocimiento de la célula sea capaz de suministrar su carga de epítipo de células T CD8+ heterólogas a la vía de presentación del MHC clase I de una célula diana. Por ejemplo, la mutación de la posición del residuo alanina-231 en Stx1A a glutamato aumentó su actividad enzimática in vitro (Suhan M, Hovde C, *Infect Immun* 66: 5252-9 (1998)).

[0753] Las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden de manera opcional conjugarse con uno o más agentes adicionales, que pueden incluir agentes terapéuticos y/o de diagnóstico conocidos en la técnica, incluidos los agentes descritos en el presente documento.

V. Producción, fabricación y purificación de moléculas que reconocen células de la presente invención

[0754] Las moléculas que reconocen células de la presente invención se pueden producir usando técnicas de ingeniería bioquímica bien conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las moléculas que reconocen células de la presente invención y/o sus componentes proteicos pueden fabricarse mediante métodos sintéticos estándar, mediante el uso de sistemas de expresión recombinantes o mediante cualquier otro método adecuado. Por lo tanto, ciertas moléculas que reconocen células de la presente invención, y componentes proteicos de las mismas, pueden sintetizarse de varias maneras, incluyendo, por ejemplo, métodos que comprenden: (1) sintetizar un polipéptido o un componente polipeptídico de una proteína usando fase sólida estándar o metodología en fase líquida, ya sea por etapas o mediante ensamblaje de fragmentos, y aislamiento y purificación del producto final de polipéptido o compuesto proteico; (2) expresar un polinucleótido que codifica un polipéptido o componente polipeptídico de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención en una célula huésped y recuperar el producto de expresión de la célula huésped o del cultivo de células huésped; o (3) expresión in vitro libre de células de un polinucleótido que codifica un polipéptido o componente polipeptídico de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, y recuperación del producto de expresión; o mediante cualquier combinación de los métodos de (1), (2) o (3) para obtener fragmentos del componente peptídico, uniéndose posteriormente (por ejemplo ligando) los fragmentos para obtener el componente peptídico y recuperando el componente peptídico. Por ejemplo, los componentes polipeptídicos y/o peptídicos se pueden ligar entre sí usando reactivos de acoplamiento, tales como, por ejemplo, N,N'-dicitclohexancarboximidida y N-etil-5-fenil-isoxazolio-3'-sulfonato (reactivo K de Woodward).

[0755] Puede ser preferible sintetizar una molécula de reconocimiento de células o un componente proteico de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención mediante síntesis de péptidos en fase sólida o líquida. Las moléculas que reconocen células de la presente invención y sus componentes pueden fabricarse adecuadamente mediante métodos sintéticos estándar. Por lo tanto, los péptidos pueden sintetizarse, por ejemplo, mediante métodos que comprenden sintetizar el péptido mediante una metodología estándar en fase sólida o en fase líquida, ya sea por etapas o mediante ensamblaje de fragmentos, y aislar y purificar el producto peptídico final. En este contexto, se puede hacer referencia al documento WO1998/11125 o, entre otros, Fields G et al., *Principles and Practice of Solid-Phase Peptide Synthesis (Synthetic Peptides)*, Grant G, ed., Oxford University Press, Reino Unido, 2ª ed., 2002) y los ejemplos de síntesis que contiene.

[0756] Las moléculas que reconocen células de la presente invención que son proteínas de fusión se pueden preparar (producir y purificar) usando técnicas recombinantes bien conocidas en la técnica. En general, los métodos para preparar proteínas cultivando células huésped transformadas o transfectadas con un vector que comprende el polinucleótido codificante y recuperando la proteína del cultivo celular se describen, por ejemplo, en Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press), Nueva York, Estados Unidos, 1989); Dieffenbach C et al., *PCR Primer: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York, EE. UU., 1995). Puede usarse cualquier célula huésped adecuada para producir una proteína de reconocimiento de células de la presente invención o un componente proteico de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. Las células huésped pueden ser células transfectadas, transformadas, transducidas o infectadas de forma estable o transitoria con uno o más vectores de expresión que impulsan la expresión de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención y/o un componente proteico de la misma. Además, se puede

producir una molécula de reconocimiento de células de la presente invención modificando el polinucleótido que codifica la proteína de reconocimiento de células de la presente invención o un componente proteico de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención que da como resultado la alteración de una o más aminoácidos o eliminar o insertar uno o más aminoácidos para lograr las propiedades deseadas, tales como citotoxicidad modificada, efectos citostáticos modificados y/o vida media en suero modificada.

[0757] Existe una amplia variedad de sistemas de expresión que pueden elegirse para producir una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. Por ejemplo, los organismos huéspedes para la expresión de proteínas que reconocen células de la presente invención incluyen procariotas, tales como *E. coli* y *B. subtilis*, células eucariotas, tales como levaduras y hongos filamentosos (como *S. cerevisiae*, *P. pastoris*, *A. awamori*, y *K. lactis*), algas (como *C. reinhardtii*), líneas celulares de insectos, células de mamíferos (como células CHO), líneas celulares vegetales y organismos eucariotas como plantas transgénicas (como *A. thaliana* y *N. benthamiana*) (ver por ejemplo, Zarschler K et al., *Microbial Cell Factories* 12: 97 (2013)).

[0758] En consecuencia, la presente divulgación también proporciona métodos (que no son parte de la presente invención reivindicada) para producir una molécula de reconocimiento de células de la presente invención de acuerdo con los métodos enumerados anteriormente y usando (i) un polinucleótido que codifica parte o la totalidad de un molécula de la presente invención o un componente polipeptídico de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, (ii) un vector de expresión que comprende al menos un polinucleótido de la presente invención capaz de codificar parte o la totalidad de una molécula de la presente invención o un componente polipeptídico de la misma cuando se introduce en una célula huésped adecuada o en un sistema de expresión libre de células, y/o (iii) una célula huésped que comprende un polinucleótido o vector de expresión de la presente invención.

[0759] Cuando una proteína se expresa usando técnicas recombinantes en una célula huésped o sistema libre de células, es ventajoso separar (o purificar) la proteína deseada de otros componentes, tales como factores de la célula huésped, para obtener preparaciones que son de alta pureza o son sustancialmente homogéneas. La purificación se puede lograr mediante métodos bien conocidos en la técnica, tales como técnicas de centrifugación, técnicas de extracción, técnicas cromatográficas y de fraccionamiento (por ejemplo, separación por tamaños mediante filtración en gel, separación de cargas mediante columna de intercambio iónico, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de fase inversa, cromatografía en resinas de sílice o de intercambio catiónico tales como DEAE y similares, cromatofoco y cromatografía de Proteína A Sefarosa para eliminar contaminantes) y técnicas de precipitación (por ejemplo, precipitación con etanol o precipitación con sulfato de amonio). Se puede utilizar cualquier número de técnicas de purificación bioquímica para aumentar la pureza de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. En ciertas realizaciones, las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden de manera opcional purificarse en formas homomultiméricas (por ejemplo, un complejo estable de dos o más moléculas que reconocen células idénticas de la presente invención) o en formas heteromultiméricas (por ejemplo, un complejo estable de dos o más moléculas que reconocen células no idénticas de la presente invención).

[0760] En los ejemplos siguientes se encuentran descripciones de ejemplos no limitantes de métodos para producir una molécula de reconocimiento de células de la presente invención o componente polipeptídico de la misma, así como aspectos específicos pero no limitantes de la producción de moléculas que reconocen células de ejemplo de la presente invención.

VI. Composiciones farmacéuticas y de diagnóstico que comprenden una molécula de reconocimiento de células de la presente invención

[0761] La presente invención proporciona moléculas que reconocen células para su uso, solas o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en una composición farmacéutica, para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades como se define en las reivindicaciones y como se describe con más detalle a continuación (ej., cánceres, tumores, anomalías del crecimiento, trastornos inmunitarios e infecciones microbianas). La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, según la presente invención, junto con al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable, como se define en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender formas homomultiméricas y/o heteromultiméricas de las moléculas que reconocen células de la presente invención. Las composiciones farmacéuticas serán útiles en métodos para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad que se describe con más detalle a continuación. Se prevé que cada una de dichas enfermedades sea una realización separada con respecto a los usos de una composición farmacéutica según la presente invención. La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas para uso en al menos un método de tratamiento según la presente invención, como se describe con más detalle a continuación.

[0762] Tal como se usa en el presente documento, los términos "paciente" y "sujeto" se usan indistintamente para referirse a cualquier organismo, comúnmente vertebrados como humanos y animales, que presenta síntomas, signos y/o indicaciones de al menos una enfermedad, trastorno, o condición. Estos términos incluyen mamíferos tales como los ejemplos no limitantes de primates, animales de ganado (por ejemplo, ganado vacuno, caballos, cerdos, ovejas,

cabras, etc.), animales de compañía (por ejemplo, gatos, perros, etc.) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratones, conejos, ratas, etc.).

[0763] Tal como se usa en el presente documento, "tratar", "tratar" o "tratamiento" y sus variantes gramaticales se refieren a un enfoque para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Los términos pueden referirse a desacelerar el inicio o la tasa de desarrollo de una condición, trastorno o enfermedad, reducir o aliviar los síntomas asociados con ella, generar una regresión completa o parcial de la condición, o alguna combinación de cualquiera de los anteriores. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, entre otros, reducción o alivio de los síntomas, disminución de la extensión de la enfermedad, estabilización (por ejemplo, no empeoramiento) del estado de la enfermedad, retraso o desaceleración de la progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. "Tratar", "tratar" o "tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en relación con el tiempo de supervivencia esperado si no se recibe tratamiento. Por tanto, un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que necesita tratamiento puede ser un sujeto que ya padece la enfermedad o trastorno en cuestión. Los términos "tratar", "tratar" o "tratamiento" incluyen la inhibición o reducción de un aumento en la gravedad de un estado patológico o síntomas en relación con la ausencia de tratamiento, y no necesariamente implican el cese completo de la enfermedad relevante, trastorno o condición. Con respecto a tumores y/o cánceres, el tratamiento incluye reducciones en la carga tumoral general y/o el tamaño del tumor individual.

[0764] Tal como se usan en el presente documento, los términos "prevenir", "prevenir", "prevención" y variantes gramaticales de los mismos se refieren a un enfoque para prevenir el desarrollo de, o alterar la patología de, una condición, enfermedad o trastorno. En consecuencia, "prevención" puede referirse a medidas profilácticas o preventivas. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, entre otros, la prevención o desaceleración de los síntomas, la progresión o el desarrollo de una enfermedad, ya sea detectable o indetectable. Un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que necesita prevención puede ser, por tanto, un sujeto que aún no padece la enfermedad o trastorno en cuestión. El término "prevención" incluye retardar la aparición de la enfermedad en relación con la ausencia de tratamiento, y no necesariamente implica una prevención permanente de la enfermedad, trastorno o afección relevante. Por lo tanto, "prevenir" o "prevención" de una afección puede referirse en ciertos contextos a reducir el riesgo de desarrollar la afección, o prevenir o retrasar el desarrollo de síntomas asociados con la afección.

[0765] Tal como se usa en el presente documento, una "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" es una cantidad o dosis de una composición (por ejemplo, una composición o agente terapéutico) que produce al menos un efecto terapéutico deseado en un sujeto, tal como prevenir o tratar una afección objetivo o aliviar beneficiosamente un síntoma asociado con la afección. La cantidad terapéuticamente eficaz más deseable es una cantidad que producirá la eficacia deseada de un tratamiento particular seleccionado por un experto en la técnica para un sujeto determinado que lo necesite. Esta cantidad variará dependiendo de una variedad de factores comprendidos por el trabajador experto, incluyendo, entre otros, las características del compuesto terapéutico (incluyendo actividad, farmacocinética, farmacodinamia y biodisponibilidad), la condición fisiológica del sujeto (incluyendo edad, sexo), tipo de enfermedad, etapa de la enfermedad, condición física general, capacidad de respuesta a una dosis determinada y tipo de medicamento), la naturaleza del vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables en la formulación y la vía de administración. Un experto en las técnicas clínicas y farmacológicas podrá determinar una cantidad terapéuticamente eficaz mediante experimentación rutinaria, concretamente monitorizando la respuesta de un sujeto a la administración de un compuesto y ajustando la dosis en consecuencia (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro A, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, EE. UU., 19^a ed., 1995)).

[0766] Una composición farmacéutica de la presente invención incluye de manera opcional un excipiente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos no limitantes de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen arginina, sulfato de arginina, ácido cítrico, glicerol, ácido clorhídrico, manitol, metionina, polisorbato, cloruro de sodio, citrato de sodio, hidróxido de sodio, sorbitol, sacarosa, trehalosa y/o agua. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un vehículo acuoso y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una sal y/o un polvo, tal como, por ejemplo, una composición liofilizada, deshidratada y/o criodesecada que comprende al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones de la composición farmacéutica de la presente invención, el excipiente funciona para reducir y/o limitar la inmunogenicidad y/o el potencial inmunogénico de la molécula de reconocimiento de células, tal como, por ejemplo, después de la administración y/o administración repetida a un mamífero.

[0767] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender uno o más adyuvantes tales como un tampón, un agente de ajuste de la tonicidad (agente isotónico), un antioxidante, un tensioactivo, un estabilizador, un conservante, un agente emulsionante, un agente crioprotector, un agente humectante y/o agente dispersante u otros aditivos bien conocidos por los expertos en la técnica, tales como, por ejemplo, un agente aglutinante. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un vehículo acuoso y un adyuvante u otro aditivo farmacéuticamente aceptable. En ciertas otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una sal y/o polvo, tal como, por ejemplo, una composición liofilizada, deshidratada y/o criodesecada que comprende un adyuvante u otro aditivo farmacéuticamente

aceptable. Los ejemplos no limitantes de estabilizadores farmacéuticamente adecuados incluyen albúmina humana y polisorbatos tales como, por ejemplo, monolaurato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 20), monopalmitato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 40), monoestearato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 60), y monooleato de (polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 80).

5 [0768] La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender uno o más tampones farmacéuticamente aceptables. Ejemplos no limitantes de tampones adecuados incluyen tampones acetato, citrato, ácido cítrico, histidina, fosfato, citrato de sodio y succinato. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un vehículo acuoso que comprende un tampón farmacéuticamente
10 aceptable. En ciertas otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una sal y/o un polvo, tal como, por ejemplo, una composición liofilizada, liofilizada, deshidratada y/o criodesecada que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable.

15 [0769] La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender uno o más agentes isotónicos o agentes de ajuste de la tonicidad farmacéuticamente aceptables. Ejemplos no limitantes de agentes isotónicos adecuados incluyen azúcares (por ejemplo, dextrosa), alcoholes de azúcar, cloruro de sodio y similares. Otros ejemplos de azúcares adecuados incluyen disacáridos como sacarosa y trehalosa. Los alcoholes de azúcar farmacéuticamente aceptables a modo de ejemplo incluyen glicerol, manitol y sorbitol. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un vehículo acuoso y un agente isotónico
20 farmacéuticamente aceptable. En ciertas otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una sal y/o un polvo, tal como, por ejemplo, una composición liofilizada, deshidratada y/o criodesecada que comprende un agente isotónico farmacéuticamente aceptable.

25 [0770] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender uno o más antioxidantes farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen antioxidantes solubles en agua, tales como, por ejemplo, ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, metionina, bisulfato de sodio, metabisulfato de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como, por ejemplo, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y agentes quelantes de metales, tales como, por ejemplo, ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un vehículo acuoso y un antioxidante farmacéuticamente aceptable.
30 En ciertas otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una sal y/o un polvo, tal como, por ejemplo, una composición liofilizada, liofilizada, deshidratada y/o criodesecada que comprende un antioxidante farmacéuticamente aceptable.

35 [0771] Una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender uno o más tensioactivos y/o agentes emulsionantes (emulsionantes) farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos y/o emulsionantes adecuados incluyen polisorbatos tales como, por ejemplo, monolaurato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 20), monopalmitato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 40), monoestearato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 60), y (monooleato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 80). En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un vehículo acuoso y un tensioactivo y/o emulsionante farmacéuticamente aceptable. En ciertas otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente La presente invención comprende una sal y/o un polvo, tal como, por ejemplo, una composición liofilizada, deshidratada y/o criodesecada que comprende un tensioactivo y/o emulsionante farmacéuticamente aceptable. También pueden ser deseables uno o más tensioactivos y/o agentes emulsionantes. en una composición farmacéutica de la presente invención para ayudar a prevenir la agregación de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender uno o más agentes conservantes farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, la prevención de la presencia de microorganismos puede garantizarse tanto mediante procedimientos de esterilización como mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, tales como, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares en las composiciones de la presente invención. invención.
40
45
50

55 [0772] Una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender uno o más agentes crioprotectores farmacéuticamente aceptables, también denominados crioprotectores o protectores criogénicos. Ejemplos no limitantes de crioprotectores adecuados incluyen etilenglicol, glicerol, sorbitol, sacarosa y trehalosa. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un vehículo acuoso y un crioprotector farmacéuticamente aceptable. En ciertas otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una sal y/o un polvo, tal como, por ejemplo, una composición liofilizada, liofilizada, deshidratada y/o criodesecada que comprende un crioprotector farmacéuticamente aceptable.
60

[0773] Además, se puede lograr una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como, por ejemplo, una sal de monoestearato, monoestearato de aluminio y/o gelatina.

65 [0774] En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden moléculas que reconocen células de la presente invención y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0775] El pH de la composición farmacéutica de la presente invención se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, o tampones con acetato, citrato, ácido cítrico, histidina, citrato de sodio, succinato, fosfato y el como. Los ejemplos no limitantes de disolventes o vehículos farmacéuticamente aceptables para uso en una composición farmacéutica de la presente invención incluyen soluciones acuosas que comprenden una molécula de reconocimiento de células de la presente invención y un tampón tal como, por ejemplo, citrato, histidina, fosfato o succinato ajustado. a pH 5,0, 6,0, 7,0 o 4,0, respectivamente. Ciertas realizaciones de la presente invención incluyen composiciones que comprenden uno de los disolventes y/o vehículos de la presente invención antes mencionados.

[0776] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención que son soluciones o suspensiones utilizadas para aplicación intradérmica o subcutánea normalmente incluyen uno o más de: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol o otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, metionina, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio y sulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético, sorbitol, ácido tartárico y ácido fosfórico; tensioactivos tales como polisorbato; tampones tales como tampones acetato, citrato, histidina y fosfato; y agentes de ajuste de la tonicidad tales como, por ejemplo, dextrosa, glicerol, manitol, cloruro sódico, sorbitol, sacarosa y trehalosa. Tales preparaciones pueden estar contenidas en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico.

[0777] Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando una proteína o molécula de reconocimiento de células de la presente invención en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes descritos anteriormente, según sea necesario, seguido de microfiltración de esterilización. Se pueden preparar dispersiones incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión y otros ingredientes, tales como los descritos anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son el secado al vacío y la liofilización (liofilización) que producen un polvo del ingrediente activo además de cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución del mismo filtrada de forma estéril. . En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un polvo que comprende sorbitol, trehalosa, citrato de sodio y polisorbato-20 y, de manera opcional, comprende además glicerol y/o metionina. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende citrato de sodio, trehalosa y polisorbato-20 y, de manera opcional, comprende además glicerol y/o metionina.

[0778] En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende sorbitol, citrato de sodio y polisorbato-20 y, de manera opcional, comprende además albúmina, glicerol y/o metionina. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención comprende sorbitol, histidina y polisorbato-20 y, de manera opcional, comprende además albúmina, glicerol y/o metionina.

[0779] Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. De esta forma, la composición se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de las preparaciones, por ejemplo, comprimidos, cápsulas y polvos envasados en viales o ampollas. La forma de dosificación unitaria también puede ser una cápsula, un sello o una tableta en sí, o puede ser el número apropiado de cualquiera de estas formas envasadas. Puede proporcionarse en forma inyectable de dosis única, por ejemplo en forma de pluma. Las composiciones pueden formularse para cualquier vía y medio de administración adecuados. Los modos de administración subcutánea o transdérmica pueden ser particularmente adecuados para las composiciones farmacéuticas y moléculas terapéuticas descritas en el presente documento.

[0780] Las composiciones terapéuticas suelen ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular como una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de fármaco. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, alcohol tal como etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido) o cualquier mezcla adecuada. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos según la química de formulación bien conocida en la técnica. En determinadas realizaciones, pueden ser deseables en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio. Se puede conseguir una absorción prolongada de composiciones inyectables incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

[0781] Las soluciones o suspensiones utilizadas para aplicación intradérmica o subcutánea normalmente incluyen uno o más de: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos; y agentes ajustadores de la tonicidad tales como, por ejemplo,

cloruro sódico o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, o tampones con citrato, fosfato, acetato y similares. Estos preparados pueden estar envasados en ampollas, jeringas desechables o viales multidosis de vidrio o plástico.

5 [0782] Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando una molécula de reconocimiento de células de la presente invención en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes descritos anteriormente, según sea necesario, seguido de microfiltración de esterilización. Se pueden preparar dispersiones incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión y otros ingredientes, tales como los descritos anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son el secado al vacío y la liofilización (liofilización) que producen un polvo del ingrediente activo además de cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución del mismo filtrada de forma estéril. .

15 [0783] Cuando se diseña una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención para ser administrada, por ejemplo, mediante inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, el agente aglutinante estará en forma de una solución acuosa parenteralmente aceptable libre de pirógenos. solución. Los métodos para preparar soluciones de proteínas parenteralmente aceptables, teniendo en cuenta el pH, la isotonicidad, la estabilidad y similares apropiados, están dentro de los conocimientos de la técnica. Una composición farmacéutica preferida para inyección intravenosa, cutánea o subcutánea contendrá, además de agentes aglutinantes, un vehículo isotónico tal como inyección de cloruro sódico, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro sódico, inyección de Ringer lactato u otro vehículo como conocido en la técnica. Una composición farmacéutica de la presente invención también puede contener estabilizadores, conservantes, tampones, antioxidantes u otros aditivos bien conocidos por los expertos en la técnica.

25 [0784] Tal como se describe en otra parte del presente documento, una molécula de reconocimiento de células de la presente invención o una composición de la misma (por ejemplo, composición farmacéutica o de diagnóstico) se puede preparar con vehículos que protegerán la molécula de reconocimiento de células de la presente invención contra la liberación rápida, tal como un Formulacion de liberación controlada, que incluye implantes, parches transdérmicos y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden utilizar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como etilenvinilacetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de dichas formulaciones están patentados o son generalmente conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems (Robinson J, ed., Marcel Dekker, Inc., NY, EE.UU., 1978).

35 [0785] En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención se puede formular para garantizar una distribución deseada in vivo. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica excluye muchos compuestos grandes y/o hidrófilos. Para dirigir una molécula o composición terapéutica de la presente invención a una ubicación particular in vivo, se puede formular, por ejemplo, en liposomas que pueden comprender uno o más restos que se transportan selectivamente a células u órganos específicos, mejorando así la administración dirigida del fármaco. . Los restos de dirección de ejemplo incluyen folato o biotina; manósidos; anticuerpos; receptor de proteína A tensoactivo; p120 catenina y similares.

45 [0786] Las composiciones farmacéuticas incluyen formulaciones parenterales diseñadas para usarse como implantes o sistemas de partículas. Ejemplos de implantes son formulaciones de depósito compuestas de componentes poliméricos o hidrófobos tales como emulsiones, resinas de intercambio iónico y soluciones salinas solubles. Ejemplos de sistemas de partículas son microesferas, micropartículas, nanocápsulas, nanoesferas y nanopartículas. Se pueden preparar formulaciones de liberación controlada usando polímeros sensibles a los iones, tales como, por ejemplo, liposomas, polaxámero 407 e hidroxipatita.

50 [0787] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden producir usando técnicas conocidas en la técnica de manera que las composiciones producidas comprendan emulsiones, liposomas, niosomas, nanopartículas poliméricas y/o nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) (ver, por ejemplo, Lakshmi P et al., Venereal Leprol 73: 157-161 (2007); Una revolución en el diseño y desarrollo de formas farmacéuticas, avances recientes en nuevos sistemas portadores de fármacos (Sezer A, ed., InTech, 2012)).

55 [0788] Las composiciones de diagnóstico de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) comprenden una molécula de reconocimiento de células de la presente invención y uno o más agentes promotores de la detección. Se conocen en la técnica diversos agentes promotores de la detección, tales como isótopos, colorantes, agentes colorimétricos, agentes potenciadores del contraste, agentes fluorescentes, agentes bioluminiscentes y agentes magnéticos. Estos agentes pueden incorporarse en la molécula de reconocimiento de células descrita en el presente documento en cualquier posición adecuada siempre que se conserve la(s) actividad(es) funcional(es) requerida(s). Por ejemplo, el enlace o la incorporación del agente promotor de la detección puede realizarse a través de uno o más residuos de aminoácidos de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención o mediante algún tipo de enlace conocido en la técnica, incluyendo mediante enlazadores y/o quelantes. .

65 La asociación del agente promotor de la detección con una molécula de reconocimiento de células de una composición de diagnóstico de la presente divulgación es de tal manera que permite la detección de la presencia de la molécula de

reconocimiento de células y/o su célula diana después de la internalización de la célula. -molécula de reconocimiento de una pantalla, ensayo, procedimiento de diagnóstico y/o técnica de imagen.

5 [0789] Existen numerosos agentes promotores de la detección conocidos por el experto que pueden asociarse o unirse operativamente a la molécula de reconocimiento de células de la presente invención para métodos de recopilación de información, tales como para aplicaciones de diagnóstico y/o pronóstico de enfermedades, trastornos, o condiciones de un organismo. Por ejemplo, los agentes promotores de la detección incluyen agentes de contraste que mejoran la imagen, tales como tintes fluorescentes (por ejemplo, Alexa680, verde de indocianina y Cy5.5), isótopos y radionúclidos, tales como ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ³²P, ⁵¹Mn, ⁵²mMn, ⁵²Fe, ⁵⁵Co, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁷²As, ⁷³Se, 10 ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁸²mRb, ⁸³Sr, ⁸⁶Y, ⁹⁰Y, ⁸⁹Zr, ⁹⁴mTc, ⁹⁴Tc, ⁹⁹mTc, ¹¹⁰In, ¹¹¹In, ¹²⁰I, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹⁵⁴Gd, ¹⁵⁵Gd, ¹⁵⁶Gd, ¹⁵⁷Gd, ¹⁵⁸Gd, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, y ²²³Rn; iones paramagnéticos, tales como cromo (III), manganeso (II), hierro (III), hierro (II), cobalto (II), níquel (II), cobre (II), neodimio (III), samario (III), iterbio (III), gadolinio (III), vanadio (II), terbio (III), disprosio (III), holmio (III) o erbio (III); metales, como lantano (III), oro (III), plomo (II) y bismuto (III); agentes potenciadores del contraste de ultrasonidos, tales como liposomas; Agentes radioopacos, como compuestos de bario, galio y talio. Los 15 agentes promotores de la detección se pueden incorporar directa o indirectamente usando un grupo funcional intermediario, tal como quelantes como 2-bencil DTPA, PAMAM, NOT A, DOTA, TETA, análogos de los mismos y equivalentes funcionales de cualquiera de los anteriores.

20 [0790] Existen numerosos enfoques de imágenes en la técnica que son conocidos por el trabajador experto, tales como técnicas de imágenes in vivo no invasivas comúnmente utilizadas en el ámbito médico, por ejemplo: imágenes de tomografía computarizada (exploración por TC), imágenes ópticas (incluyendo directa, fluorescente y bioluminiscente), resonancia magnética (MRI), tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), ultrasonido y tomografía computarizada de rayos X.

25 [0791] La frase "cantidad suficiente para el diagnóstico" se refiere a una cantidad que proporciona una detección adecuada y una medición precisa para fines de recopilación de información mediante el ensayo o técnica de diagnóstico particular utilizado. Generalmente, la cantidad suficiente para el diagnóstico de todo el organismo, in vivo, para uso diagnóstico será una dosis no acumulativa de entre 0,001 mg y 1 mg del agente promotor de la detección unido a la molécula de reconocimiento de células por kilogramo (kg) de sujeto por sujeto (mg/kg). Sin embargo, la 30 cantidad suficiente para diagnóstico para todo el organismo, in vivo, para uso diagnóstico puede ser una dosis no acumulativa de entre 0,0001 mg y 10 mg del agente promotor de la detección unido a la molécula de reconocimiento de células por kilogramo (kg) de sujeto por sujeto (mg/kg). Normalmente, la cantidad de molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación utilizada en estos métodos de recopilación de información será lo más baja posible siempre que siga siendo una cantidad suficiente para el diagnóstico. Por ejemplo, para la detección in vivo en 35 un organismo, la cantidad de molécula de reconocimiento de células o composición de diagnóstico de la presente divulgación administrada a un sujeto será lo más baja posible.

VII. Producción o fabricación de una composición farmacéutica y/o de diagnóstico que comprende una molécula de reconocimiento de células de la presente invención

40 [0792] Las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de las moléculas que reconocen células de la presente invención también están dentro del alcance de la presente invención.

45 [0793] El término " solvato " en el contexto de la presente invención se refiere a un complejo de estequiometría definida formado entre un soluto (en caso, una molécula de reconocimiento de células o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma según la presente invención) y un disolvente. El disolvente a este respecto puede ser, por ejemplo, agua, etanol u otra especie orgánica de pequeño peso molecular, típicamente farmacéuticamente aceptable, tal como, entre otros, ácido acético o ácido láctico. Cuando el disolvente en cuestión es agua, dicho solvato normalmente se denomina hidrato. 50

[0794] Las moléculas que reconocen células de la presente invención, o sus sales, se pueden formular como composiciones farmacéuticas preparadas para almacenamiento o administración, que normalmente comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal del mismo, en una vehículo farmacéuticamente aceptable. El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar. Los vehículos farmacéuticamente aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la 55 técnica farmacéutica y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co. (A. Gennaro, ed., 1985)). Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares, fisiológicamente aceptables, es decir, compatibles. Los vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen aquellos usados en formulaciones adecuadas para administración oral, rectal, nasal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica y transdérmica). Los vehículos farmacéuticamente aceptables a modo de ejemplo incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la 60 presente invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, 65

como el oleato de etilo. Una fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, como por ejemplo lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos. En determinadas realizaciones, el vehículo es adecuado para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, espinal o epidérmica (por ejemplo, mediante inyección o infusión).
 5 Dependiendo de la vía de administración seleccionada, la proteína u otro componente farmacéutico puede estar recubierto de un material destinado a proteger el compuesto de la acción del pH bajo y otras condiciones naturales de inactivación a las que puede enfrentarse la proteína activa cuando se administra a un paciente por un agente particular. ruta de administración.

10 [0795] Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de la farmacia. En dicha forma, la composición se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de las preparaciones, por ejemplo, comprimidos envasados, cápsulas y
 15 polvos en viales o ampollas. La forma de dosificación unitaria puede ser también una cápsula, píldora o el propio comprimido, o puede ser el número apropiado de cualquiera de estas formas envasadas. Puede proporcionarse en forma inyectable de dosis única, por ejemplo en forma de una pluma. Las composiciones se pueden formular mediante cualquier vía y medios de administración adecuados. Los modos de administración subcutáneos o transdérmicos pueden ser particularmente adecuados para composiciones farmacéuticas y moléculas terapéuticas de la presente invención descritas en este documento.

20 [0796] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la presencia de microorganismos se puede asegurar tanto mediante procedimientos de esterilización como mediante la inclusión
 25 de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También pueden ser deseables agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

30 [0797] Una composición farmacéutica de la presente invención también incluye opcionalmente un antioxidante farmacéuticamente aceptable. Los antioxidantes farmacéuticamente aceptables de ejemplo son antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares; y agentes quelantes de metales,
 35 tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

[0798] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden uno o una combinación de diferentes moléculas de reconocimiento de células de la presente invención, o un éster, sal o amida de cualquiera de los anteriores, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

40 [0799] Las composiciones terapéuticas son típicamente estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, liposoma, u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de fármaco. El portador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, alcohol, tal como etanol, poliol (por ejemplo glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), o cualquier mezcla adecuada. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de agentes tensioactivos de acuerdo con la química de la formulación bien conocida en la técnica. En ciertas realizaciones, pueden ser deseables en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, tales como manitol, sorbitol, o cloruro de sodio. La absorción prolongada de composiciones inyectables puede provocarse mediante la inclusión en la composición de un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

55 [0800] Las soluciones o suspensiones utilizadas para aplicación intradérmica o subcutánea incluyen típicamente uno o más de: un diluyente estéril, tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos; y agentes de ajuste de la tonicidad, tales como, por ejemplo, cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, o tampones con citrato, fosfato, acetato y similares. Dichas preparaciones se pueden incluir en ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis fabricados de vidrio o plástico.

60 [0801] Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes descritos anteriormente, según se requiera, seguido de microfiltración con esterilización. Las dispersiones se pueden preparar mediante la incorporación de la molécula activa en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión y los otros ingredientes, tales como los descritos anteriormente. En el caso

de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación son secado al vacío y secado por congelación (liofilización) que producen un polvo del principio activo además de cualquier ingrediente deseado adicional de una solución filtrada estéril de los mismos.

5 [0802] Cuando se diseña una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención para ser administrada mediante, por ejemplo, inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, el agente aglutinante estará en forma de una solución acuosa libre de pirógenos parenteralmente aceptable. Los procedimientos para preparar soluciones de proteína parenteralmente aceptables, teniendo en consideración un pH, isotonicidad, estabilidad, y similares apropiados están dentro de la experiencia en la técnica. Una composición farmacéutica preferida para inyección intravenosa, cutánea o subcutánea contendrá, además de agentes aglutinante, un vehículo isotónico, tal como inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro sódico, inyección de Ringer con lactato, u otro vehículo conocido en la técnica. Una composición farmacéutica de la presente invención también puede contener estabilizantes, conservantes, tampones, antioxidantes, u otros aditivos bien conocidos por los expertos en la técnica.

15 [0803] Tal como se describe en otra parte en el presente documento, una molécula de reconocimiento de células o composición farmacéutica de la presente invención se pueden preparar con portadores que protegerán la molécula de reconocimiento de células contra la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos y sistemas de liberación microencapsulada. Se pueden utilizar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos procedimientos para la preparación de tales formulaciones están patentados o son generalmente conocidos para los expertos en la técnica (véase, por ejemplo Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems (Robinson J, ed., Marcel Dekker, Inc., NY, US, 1978)).

25 [0804] En ciertas realizaciones, la composición de la presente invención puede formularse para asegurar una distribución deseada *in vivo*. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica excluye muchos compuestos grandes y/o hidrófilos. Para direccionar una molécula de reconocimiento de células terapéutica o composición de la presente invención a una localización particular *in vivo*, se puede formular, por ejemplo, en liposomas que pueden comprender uno o más restos que se transportan selectivamente en células u órganos específicos, mejorando así la administración dirigida de fármacos. Los restos de direccionamiento de ejemplo incluyen folato o biotina; manósidos; anticuerpos; receptor de la proteína A surfactante; p120 catenina y similares.

35 [0805] Las composiciones farmacéuticas incluyen formulaciones parenterales diseñadas para ser utilizadas como implantes o sistemas de partículas. Los ejemplos de implantes son formulaciones de depósito compuestas de componentes poliméricos o hidrófobos, tales como emulsiones, resinas de intercambio iónico y soluciones de sales solubles. Ejemplos de sistemas de partículas son microesferas, micropartículas, nanocápsulas, nanopartículas y nanoesferas (véase, por ejemplo Honda M et al, Int J Nanomedicine. 8: 495-503 (2013); Sharma A et al, Biomed Res Int 2013: 960 821 (2013); Ramishetti S, Huang L, Ther Deliv 3: 1429-1445 (2012)). Las formulaciones de liberación controlada se pueden preparar utilizando polímeros sensibles a iones, tales como, por ejemplo, liposomas, polaxámero 407 e hidroxipatita.

VIII. Polinucleótidos, vectores de expresión y células huésped de la presente invención

45 [0806] Más allá de las moléculas que reconocen células de la presente invención y sus componentes polipeptídicos, los polinucleótidos que codifican las moléculas que reconocen células de la presente invención también están abarcados dentro del alcance de la presente invención, como se define en las reivindicaciones. El término "polinucleótido" es equivalente al término "ácido nucleico", cada uno de los cuales incluye uno o más de: polímeros de ácidos desoxirribonucleicos (ADN), polímeros de ácidos ribonucleicos (ARN), análogos de estos ADN o ARN generados usando análogos de nucleótidos., y derivados, fragmentos y homólogos de los mismos. El polinucleótido de la presente invención puede ser de cadena única, doble o triple. Se describe específicamente que dichos polinucleótidos incluyen todos los polinucleótidos capaces de codificar una proteína de ejemplo, por ejemplo, teniendo en cuenta la oscilación que se sabe que se tolera en la tercera posición de los codones de ARN, pero que codifican aún el mismo aminoácido que un codón de ARN diferente (ver Stothard P, Biotechniques 28: 1102-4 (2000)).

55 [0807] En un aspecto, la presente invención proporciona polinucleótidos que codifican una molécula de reconocimiento de células de la presente invención (por ejemplo, una proteína de fusión). Los polinucleótidos pueden incluir, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de al menos 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 99 % o más., identidad con un polipéptido que comprende una de las secuencias de aminoácidos de la proteína. La divulgación también incluye polinucleótidos que comprenden secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones estrictas con un polinucleótido que codifica una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o un fragmento de polipéptido o derivado del mismo, o el antisentido o complemento de cualquiera de dichas secuencias.

65 [0808] Los derivados o análogos de las moléculas que reconocen células de la presente invención incluyen, entre otros, moléculas de polinucleótidos (o polipéptidos) que tienen regiones que son sustancialmente homólogas a los polinucleótidos, moléculas que reconocen células o componentes polipeptídicos de las moléculas que reconocen

células de la presente invención. moléculas de la presente invención, por ejemplo, con al menos aproximadamente un 45 %, 50 %, 70 %, 80 %, 95 %, 98 % o incluso un 99 % de identidad (con una identidad preferida de 80-99 %) sobre un polinucleótido o polipéptido secuencia del mismo tamaño o cuando se compara con una secuencia alineada en la que el alineamiento se realiza mediante un programa de homología informático conocido en la técnica. Un programa de ejemplo es el programa GAP (Wisconsin Sequence Analysis Package, Versión 8 para UNIX, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison, WI, EE. UU.) que utiliza la configuración predeterminada, que utiliza el algoritmo de Smith T, Waterman M, Adv Appl. Matemáticas 2: 482-9 (1981). También se describen en el presente documento polinucleótidos capaces de hibridarse con el complemento de una secuencia que codifica la molécula de reconocimiento de células de la presente invención en condiciones estrictas (véase, por ejemplo, Ausubel F et al., Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, Nueva York, NY), Estados Unidos, 1993)), y más abajo. Los expertos en la técnica conocen condiciones estrictas y se pueden encontrar, por ejemplo, en Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, NY, EE.UU., Ch. Sec. 6.3.1-6.3.6 (1989)).

[0809] La presente invención proporciona además vectores de expresión que comprenden los polinucleótidos dentro del alcance de la presente invención. Los polinucleótidos capaces de codificar las moléculas que reconocen células de la presente invención, o sus componentes polipeptídicos, pueden insertarse en vectores conocidos, incluidos plásmidos bacterianos, vectores virales y vectores de fagos, utilizando materiales y métodos bien conocidos en la técnica para producir vectores de expresión. Dichos vectores de expresión incluirán los polinucleótidos necesarios para soportar la producción de las moléculas que reconocen células contempladas de la presente invención dentro de cualquier célula huésped de elección o sistemas de expresión libres de células (por ejemplo, pTxb1 y pIVEX2.3). Los polinucleótidos específicos que comprenden vectores de expresión para uso con tipos específicos de células huésped o sistemas de expresión libres de células son bien conocidos por un experto en la técnica, pueden determinarse usando experimentación de rutina o pueden adquirirse.

[0810] El término "vector de expresión", como se usa en el presente documento, se refiere a un polinucleótido, lineal o circular, que comprende una o más unidades de expresión. El término "unidad de expresión" denota un segmento de polinucleótido que codifica un polipéptido de interés y capaz de proporcionar expresión del segmento de ácido nucleico en una célula huésped. Una unidad de expresión normalmente comprende un promotor de la transcripción, un marco de lectura abierto que codifica el polipéptido de interés y un terminador de la transcripción, todos en una configuración operativa. Un vector de expresión contiene una o más unidades de expresión. Así, en el contexto de la presente invención, un vector de expresión que codifica una molécula de reconocimiento de células de la presente invención (por ejemplo, un scFv recombinado genéticamente con un polipéptido efector de la toxina Shiga fusionado a un péptido-epitopo de células T) incluye al menos una unidad de expresión. para la cadena polipeptídica única, mientras que una proteína que comprende, por ejemplo, dos o más cadenas polipeptídicas (por ejemplo, una cadena que comprende un dominio VL y una segunda cadena que comprende un dominio VH unido a una región efectora de toxina) incluye al menos dos unidades de expresión, una para cada una de las dos cadenas polipeptídicas de la proteína. Para la expresión de proteínas de cadena múltiple que reconocen células de la presente invención, una unidad de expresión para cada cadena polipeptídica también puede estar contenida por separado en diferentes vectores de expresión (por ejemplo, la expresión se puede lograr con una única célula huésped en la que se tienen vectores de expresión para cada cadena polipeptídica). introducido).

[0811] Los vectores de expresión capaces de dirigir la expresión transitoria o estable de polipéptidos y proteínas son bien conocidos en la técnica. Los vectores de expresión generalmente incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: una secuencia señal o péptido heterólogo, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de la transcripción. cada uno de los cuales es bien conocido en la técnica. En la técnica se conocen secuencias de control reguladoras opcionales, secuencias de integración y marcadores útiles que pueden emplearse.

[0812] Se pueden usar sistemas libres de células para producir moléculas que reconocen células de la presente invención (véase, por ejemplo, Jaing X et al., FEBS Lett 514: 290-4 (2002); Kawasaki T et al., Eur J Biochem 270 : 4780-6 (2003); Ali M et al., J Biosci Bioeng 99: 181-6 (2005); Galeffi P et al., J Transl Med 4: 39 (2006); Han Y et al., Biotechnol Prog. 22:1084-9 (2006); Schenk J et al., Biochemistry 89:1304-11 (2007); Oh I et al., Bioproc Biosyst Eng 33 127-32 (2010); Merk H et al., BioTechniques 53 : 153-60 (2012); Stech M et al., J Biotechnol 164: 220-31 (2012); Yin G et al., mAbs 4: 217-25 (2012); Groff D et al., mAbs 6: 671-8 (2014); Stech M et al., Eng Life Sci 14: 387-98 (2014); Stech M, Kubick S, Antibodies 4: 12-33 (2015); Thoring L et al., Sci Rep 7 : 11710 (2017); Stech M et al., Sci Rep 7: 12030 (2017)).

[0813] El término "célula huésped" se refiere a una célula que puede soportar la replicación o expresión del vector de expresión. Las células huésped pueden ser células procarióticas, tales como E. coli o células eucariotas (por ejemplo, células de levadura, insectos, anfibios, aves o mamíferos). La creación y el aislamiento de líneas celulares huésped que comprenden un polinucleótido de la presente invención o capaces de producir una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o un componente polipeptídico de la misma, se pueden lograr usando técnicas estándar conocidas en la técnica.

[0814] Las moléculas que reconocen células dentro del alcance de la presente invención pueden ser variantes o derivados de los polipéptidos y proteínas descritos en el presente documento, dentro del alcance de las

reivindicaciones, que se producen modificando el polinucleótido que codifica un polipéptido y/o proteína alterando uno o más aminoácidos o eliminar o insertar uno o más aminoácidos que pueden hacerlo más adecuado para lograr las propiedades deseadas, tales como una expresión más óptima por parte de una célula huésped.

5 IX. Dispositivos y kits de suministro

[0815] La divulgación se refiere a un dispositivo (que no forma parte de la presente invención reivindicada) que comprende una o más composiciones de materia de la presente invención, tal como una composición farmacéutica, para su administración a un sujeto que lo necesita. Por lo tanto, se puede usar un dispositivo de administración que
10 comprende uno o más compuestos de la presente invención para administrar a un paciente una composición de materia de la presente invención mediante diversos métodos de administración, que incluyen: inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal; administración oral; administración transdérmica; administración pulmonar o transmucosa; administración mediante implante, bomba osmótica, cartucho o microbomba; o por otros medios reconocidos por un experto en la técnica.

[0816] También se describe en el presente documento un kit (que no forma parte de la presente invención reivindicada) que comprende al menos una composición de materia de la presente invención y un reactivo adicional y/o dispositivo de administración farmacéutica y, de manera opcional, embalaje e instrucciones de uso. Los kits pueden ser útiles para la administración de fármacos y/o la recopilación de información de diagnóstico. El kit descrito en el presente
20 documento puede comprender de manera opcional al menos un reactivo adicional (por ejemplo, estándares, marcadores y similares). Los kits suelen incluir una etiqueta que indica el uso previsto del contenido del kit. El kit puede comprender además reactivos y otras herramientas para detectar un tipo de célula (por ejemplo, una célula tumoral) en una muestra o en un sujeto, o para diagnosticar si un paciente pertenece a un grupo que responde a una estrategia terapéutica que hace uso de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o composición de la misma, o método relacionado como se describe en el presente documento.

X. Métodos para usar una molécula de reconocimiento de células de la presente invención y composición farmacéutica y/o composición diagnóstica de la misma

[0817] Generalmente, es un objeto de la presente invención proporcionar agentes farmacológicamente activos, así como composiciones que los comprenden, que pueden usarse en la prevención y/o tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones, tales como ciertos cánceres., tumores, anomalías del crecimiento, trastornos inmunitarios o condiciones patológicas adicionales mencionadas en el presente documento. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona métodos (que no son parte de la presente invención reivindicada) para usar las moléculas que reconocen
35 células y las composiciones farmacéuticas de la presente invención para la administración de una carga de epítipo de células T CD8+ a las vías de presentación del MHC de clase I de células diana y para la destrucción selectiva de células específicas. La divulgación también proporciona métodos (que no forman parte de la presente invención reivindicada) para marcar las superficies celulares de células diana con pMHC Is específicos y/o compartimentos interiores específicos de células diana, para recopilar información de diagnóstico y para tratar enfermedades como se describe. Aquí en. Por ejemplo, los métodos de la presente divulgación se pueden usar como inmunoterapia para prevenir o tratar cánceres, inicio de cáncer, inicio de tumores, metástasis y/o recurrencia de enfermedades cancerosas.

[0818] En particular, es un objeto de la presente invención proporcionar tales agentes y composiciones farmacológicamente activos que tengan ciertas ventajas en comparación con los agentes y composiciones que se conocen actualmente en la técnica. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona métodos (que no forman parte de la presente invención reivindicada) para usar moléculas que reconocen células caracterizadas por secuencias de proteínas específicas y composiciones farmacéuticas de las mismas. Por ejemplo, la presente divulgación proporciona que cualquiera de las secuencias polipeptídicas en SEQ ID NO: 4-255, 259-278 y 288-748 se utilice específicamente como componente de las moléculas que reconocen células utilizadas en los siguientes métodos o cualquier método para usar una molécula de reconocimiento de células conocida por el experto, tal como, por ejemplo, diversos métodos descritos en los documentos WO 2014/164680, WO 2014/164693, WO 2015/138435, WO 2015/138452, WO 2015/113005, WO 2015 /113007, WO 2015/191764, US2015/259428, US2014/965882, WO 2016/196344, WO 2017/019623 y WO 2018/106895.

[0819] La presente divulgación proporciona métodos in vitro (que no son parte de la presente invención reivindicada) para administrar una carga de epítipo de células T CD8+ a una célula, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto la célula con una molécula de reconocimiento de la célula o un producto farmacéutico. composición de la presente invención. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención provoca, después de la etapa de contacto, una interacción intercelular de la célula por una célula inmunitaria, tal como, por ejemplo, una célula T CD8+ y/o CTL, ya sea in vitro. cultivo celular o in vivo dentro de un cordado vivo. La presentación de un epítipo de célula T CD8+ por una célula diana dentro de un organismo puede conducir a la activación de respuestas inmunitarias sólidas hacia una célula diana y/o su ubicación general dentro de un organismo. Por tanto, la administración dirigida de una carga de epítipo de células T CD8+ para su presentación puede utilizarse como mecanismo para activar las respuestas de las células T CD8+ durante un régimen terapéutico
65 y/o una estrategia de vacunación.

[0820] Específicamente, la presente divulgación proporciona métodos in vitro (que no son parte de la presente invención reivindicada) para administrar a una molécula intracelular de MHC de clase I de una célula, un péptido-epítipo de células T CD8+, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto la célula con una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención provoca, después de la etapa de contacto, una interacción intercelular de la célula por una célula inmunitaria, tal como, por ejemplo, una célula T CD8+ y/o CTL, ya sea in vitro. cultivo celular o in vivo dentro de un cordado

[0821] El suministro de la carga del epítipo de células T CD8+ a la ruta de presentación del MHC de clase I de una célula diana usando una molécula de reconocimiento de células de la presente invención se puede usar para inducir a la célula diana a presentar el péptido-epítipo en asociación con Moléculas de MHC de clase I en la superficie celular. En un cordado, la presentación de un epítipo inmunogénico de células T CD8+ por el complejo MHC clase I puede sensibilizar a la célula presentadora para su muerte mediante citólisis mediada por CTL, inducir a las células inmunitarias a alterar el microambiente y señalar el reclutamiento de más células inmunes. células al sitio celular objetivo dentro del cordado. Por lo tanto, las moléculas que reconocen células de la presente invención, y sus composiciones, se pueden usar para destruir un tipo de célula específico al poner en contacto una célula o células con una molécula de reconocimiento de células de la presente invención y/o se pueden usar para estimular una respuesta inmune en un cordado.

[0822] Al diseñar epítopos de MHC de clase I, tales como, por ejemplo, de un antígeno viral conocido, en moléculas que reconocen células, la administración dirigida y la presentación de antígenos inmunoestimuladores se pueden usar para aprovechar y dirigir funciones beneficiosas de una célula inmune cordada, por ejemplo in vitro, y/o un sistema inmune cordado in vivo. Esto se puede lograr mediante la administración exógena de la molécula de reconocimiento de las células en un espacio extracelular, tal como, por ejemplo, la luz de un vaso sanguíneo, y a continuación permitiendo que la molécula de reconocimiento de las células encuentre una célula objetivo, entre en la célula y suministro intracelularmente su carga de epítopos de células T CD8+. Las aplicaciones de estas funciones de administración de carga de epítopos de células T CD8+ y de presentación de MHC de clase I de las moléculas que reconocen células de la presente invención son amplias. Por ejemplo, la suministro de una carga de epítipo CD8+ a una célula y la presentación MHC clase I del epítipo suministrado por la célula en un cordado puede causar la interacción intercelular de una célula T efectora CD8+ y puede conducir a un CTL(s) destruir la célula diana y/o secretar citocinas inmunoestimuladoras.

[0823] La presente divulgación describe un método inmunoterapéutico (que no forma parte de la presente invención reivindicada), comprendiendo el método la etapa de administrar a un paciente, que lo necesite, una molécula de reconocimiento de células y/o una composición farmacéutica de la presente invención. . El método inmunoterapéutico puede ser un método para tratar una enfermedad (tal como, por ejemplo, un cáncer, un tumor, una anomalía del crecimiento, un trastorno inmunitario y/o una infección microbiana), estimulando una respuesta inmunitaria beneficiosa en el paciente.

[0824] La presente divulgación describe un método inmunoterapéutico para tratar el cáncer (que no forma parte de la presente invención reivindicada), comprendiendo el método la etapa de administrar a un paciente, que lo necesita, una molécula de reconocimiento de células y/o una composición farmacéutica de la presente invención. El método puede comprender las etapas adicionales de administrar al paciente un adyuvante y/o un agente que altere el microbioma (ver, por ejemplo, Vetzou M et al., Science 350: 1079-84 (2015); Ayelet S et al., Science 350: 1084 -9 (2015); US2015/352206; WO2016/063263).

[0825] La presente divulgación proporciona métodos de inmunoterapia (que no son parte de la presente invención reivindicada) que implican administrar una carga de epítipo de células T CD8+ a una célula diana en un cordado y provocar una respuesta inmune, comprendiendo el método la etapa de administrar al cordado una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención. La respuesta inmunitaria puede ser una respuesta de células inmunitarias intercelulares seleccionadas del grupo que consiste en: secreción de una(s) citocina(s) por parte de las células inmunitarias CD8+, detención del crecimiento inducida por CTL en la célula diana, necrosis inducida por CTL de la célula diana, apoptosis inducida por CTL de la célula diana. célula diana, muerte celular no específica en un locus tisular, propagación de epítipo intermolecular, ruptura de la tolerancia inmunológica a un tipo de célula maligna y adquisición del cordado de inmunidad persistente a un tipo de célula maligna (véase, por ejemplo, Matsushita H et al., Cancer Immunol Res. 3: 26-36 (2015)). Estas respuestas inmunes pueden detectarse y/o cuantificarse usando técnicas conocidas por el experto. Por ejemplo, las células inmunitarias CD8+ pueden liberar citocinas inmunoestimulantes, como, por ejemplo, IFN- γ , factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), proteína 1 beta inflamatoria de macrófagos (MIP-1 β) e interleucinas como IL-17, IL-4, IL-22 e IL-2 (véanse, por ejemplo, Ejemplos, más adelante; Seder R et al., Nat Rev Immunol 8: 247-58 (2008)). El IFN- γ puede aumentar la expresión de la molécula MHC de clase I y sensibilizar las células neoplásicas a la destrucción celular mediada por CTL (Vlková V et al., Oncotarget 5: 6923-35 (2014)). Las citocinas inflamatorias pueden estimular células T espectadoras que albergan especificidades de TCR no relacionadas con la célula liberadora de citocinas (véase, por ejemplo, Tough D et al., Science 272: 1947-50 (1996)). Los CTL activados pueden destruir indiscriminadamente las células proximales a la célula presentadora del complejo epítipo-MHC de clase I independientemente del repertorio actual del complejo péptido-MHC de clase I de la célula proximal (Wiedemann A et al., Proc Natl Acad Sci USA 103: 10985-90 (2006)) .

Por lo tanto, la respuesta inmune puede ser una respuesta de células inmunes intercelulares seleccionadas del grupo que consiste en: destrucción de células proximales mediada por células inmunes donde la célula proximal no muestra ningún péptido-epítipo de células T CD8+ administrado por la molécula de reconocimiento de células del presente invención e independientemente de la presencia de cualquier biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula de reconocimiento de células físicamente acoplada a la(s) célula(s) proximal(es) que se destruyen.

[0826] La presencia de epítomos no propios en células lisadas por CTL, ya sean células diana o células simplemente proximales a las células diana, puede ser reconocida y dirigida como extraña por el sistema inmunológico, incluido el reconocimiento de epítomos no propios en células diana mediante el mecanismo de propagación de epítomos intermoleculares (véase McCluskey J et al., *Immunol Rev* 164: 209-29 (1998); Vanderlugt C et al., *Immunol Rev* 164: 63-72 (1998); Vanderlugt C, Miller S, *Nat Rev Immunol* 2: 85-95 (2002)). Las células proximales pueden incluir células no neoplásicas, tales como, por ejemplo, fibroblastos asociados a cáncer, células madre mesenquimales, células endoteliales asociadas a tumores y células supresoras derivadas de mieloides inmaduras. Por ejemplo, una célula cancerosa puede albergar en promedio de 25 a 500 mutaciones no sinónimas en secuencias codificantes (ver, por ejemplo, Fritsch E et al., *Cancer Immunol Res* 2: 522-9 (2014)). Tanto las mutaciones conductoras como las no conductoras del cáncer son parte del panorama mutacional de una célula cancerosa que corresponde a numerosos epítomos no propios por célula y el tumor promedio puede poseer diez o más epítomos no propios (ver, por ejemplo, Segal N et al., *Cancer Res* 68: 889-92 (2008)). Por ejemplo, las formas mutantes de la proteína tumoral p53 pueden contener epítomos no propios (véase, por ejemplo, Vigneron N et al., *Cancer Immun* 13: 15 (2013)). Además, la presencia de epítomos no propios, como las autoproteínas mutadas, puede dar lugar a la producción de células de memoria específicas de esos nuevos epítomos. Debido a que ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención pueden aumentar el muestreo de células dendríticas en un locus de tejido objetivo, se puede aumentar la probabilidad de cebado cruzado del sistema inmunológico con antígenos intracelulares (véase, por ejemplo, Chiang C et al., *Expert Opin Biol Ther* 15: 569-82 (2015)). Por lo tanto, como resultado de la administración de moléculas que reconocen células de una carga de epítipo de células T CD8+ heteróloga y la presentación de MHC clase I de ese epítipo, el sistema inmunológico puede rechazar las células diana y otras células proximales que contienen epítomos no propios, incluyendo a través de epítomos no propios distintos de los epítomos administrados por una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. Dichos mecanismos podrían, por ejemplo, inducir inmunidad antitumoral contra células tumorales que no expresan la biomolécula diana extracelular de la región de unión de la molécula diana a la célula.

[0827] Las respuestas inmunes que implican la secreción de citoquinas y/o la activación de células T pueden dar como resultado la modulación del inmunomicroambiente de un locus dentro de un cordado. Se puede usar un método de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) para alterar el microambiente de un locus tisular dentro de un cordado para cambiar la homeostasis reguladora en células inmunes, tales como, por ejemplo, macrófagos asociados a tumores, Células T, células T colaboradoras, células presentadoras de antígenos y células asesinas naturales.

[0828] Se puede usar un método de la presente divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) para mejorar la inmunidad de las células antitumorales en un sujeto cordado y/o para crear una inmunidad antitumoral persistente en un cordado, tal como, por ejemplo, debido al desarrollo de células T de memoria y/o alteraciones del microambiente tumoral.

[0829] Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, o composiciones farmacéuticas de las mismas, se pueden usar para "sembrar" un locus dentro de un cordado con células presentadoras de péptido-epítipo de células T CD8+ no propias con el fin de estimular el sistema inmunológico para controlar el locus con mayor fuerza y/o aliviar las señales inmunoinhibidoras, por ejemplo, señales que inducen anergia. En determinadas realizaciones adicionales, el locus es una masa tumoral o un sitio de tejido infectado. En determinadas realizaciones, el péptido-epítipo de células T CD8+ no propio se selecciona del grupo que consiste en: péptidos que aún no están presentados por las células diana de la molécula de reconocimiento de células, péptidos que no están presentes dentro de ninguna proteína expresada por la célula diana, péptidos no presentes dentro del proteoma de la célula diana, péptidos no presentes en el microambiente extracelular del sitio a sembrar y péptidos no presentes en la masa tumoral o en el sitio del tejido infectado al que se dirigirá.

[0830] Este método de "siembra" de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) funciona para marcar una o más células diana dentro de un cordado con uno o más epítomos de células T CD8+ presentados por MHC de clase I (pMHC Is) para reconocimiento intercelular por parte de las células inmunes y activación de respuestas inmunes posteriores. Al explotar las funciones de internalización celular, enrutamiento intracelular y/o administración del epítipo MHC de clase I de las moléculas que reconocen células de la presente invención, las células diana que presentan el epítipo de células T CD8+ administrado pueden reconocerse mediante mecanismos de inmunovigilancia del células inmunes de cordados y dan como resultado la interacción intercelular de la célula diana presentadora por células T CD8+, tales como, por ejemplo, CTL. Este método de "siembra" descrito para usar una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede estimular la destrucción de células diana mediada por células inmunitarias independientemente de si presentan un epítipo(s) de células T administrado por una molécula de reconocimiento de células, tal como, por ejemplo, como resultado de la propagación intermolecular del epítipo y/o ruptura de la inmunotolerancia a la célula diana basándose en la presentación de antígenos endógenos

en contraposición a los epítomos administrados artificialmente. Este método de "siembra" descrito para usar una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede proporcionar un efecto de vacunación (exposición a nuevos epítomos) y/o un efecto de dosis de refuerzo de vacunación (reexposición a epítomos) al inducir respuestas inmunes adaptativas. a células dentro del microambiente sembrado, como, por ejemplo, una masa tumoral o un sitio de tejido infectado, basado en la detección de epítomos que son reconocidos como extraños por células T vírgenes y/o ya reconocibles como no propios (es decir, antígenos de recuperación) por células T de memoria. Este método de "siembra" divulgado también puede inducir la ruptura de la inmunotolerancia a una población de células diana, una masa tumoral, un sitio de tejido enfermo y/o un sitio de tejido infectado dentro de un cordado, ya sea periféricamente o sistémicamente.

[0831] La presencia de células tumorales moribundas o necróticas en el sitio o loci dentro de un cordado puede dar como resultado un efecto de estimulación inmune localizado. Por ejemplo, las células tumorales moribundas o necróticas pueden liberar factores, tales como, por ejemplo, proteínas del grupo de alta movilidad y/o ATP, que a su vez pueden estimular la maduración inmunogénica de las células inmunitarias. La siembra de un locus tumoral también puede inducir o aumentar la expresión ectópica de proteínas ER (p. ej., calreticulina) en la membrana plasmática de las células tumorales, lo que a su vez puede promover/aumentar la presentación de antígenos de clase MHC y la fagocitosis de las células tumorales en ese sitio.

[0832] Ciertos métodos de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) que implican la siembra de un locus dentro de un cordado con uno o más epítomos de células T CD8+ antigénicos y/o inmunogénicos se pueden combinar con la administración de agentes inmunológicos. adyuvantes, ya sea administrados local o sistémicamente, para estimular la respuesta inmune a ciertos antígenos, tales como, por ejemplo, la coadministración de una composición de la presente invención con uno o más adyuvantes inmunológicos como una citoquina, un producto bacteriano o saponina vegetal. Otros ejemplos de adyuvantes inmunológicos que pueden ser adecuados para su uso en los métodos de la presente invención incluyen sales y aceites de aluminio, tales como, por ejemplo, alumbre, hidróxido de aluminio, aceites minerales, escualeno, aceites de parafina, aceites de maní y timerosal.

[0833] Ciertos métodos de la presente divulgación (que no forman parte de la presente invención reivindicada) implican promover la presentación cruzada inmunogénica y/o el cebado cruzado de células T CD8+ vírgenes en un cordado. Para ciertos métodos de la presente divulgación, el cebado cruzado se produce como resultado de la muerte, y/o la forma de muerte, de una célula diana causada por una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, de modo que la exposición de antígenos intracelulares en Se promueve la célula diana moribunda o muerta a mecanismos de inmunovigilancia.

[0834] Debido a que se pueden administrar múltiples epítomos heterólogos de células T CD8+ (ya sea como cargas o como regiones incluidas o incluidas de un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga) mediante una única molécula de reconocimiento de células de la presente invención, una única realización de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede ser terapéuticamente eficaz en diferentes cordados individuales de la misma especie con diferentes variantes de molécula de clase MHC I, tal como, por ejemplo, en humanos con diferentes alelos HLA. Esta capacidad de ciertas realizaciones de la presente invención puede permitir la combinación dentro de una única molécula de reconocimiento de células de diferentes epítomos-péptidos de células T CD8+ con diferente efectividad terapéutica en diferentes subpoblaciones de sujetos según la diversidad y los polimorfismos de las moléculas del MHC de clase I. . Por ejemplo, las moléculas del MHC humano de clase I, las proteínas HLA, varían entre los humanos según su ascendencia genética, por ejemplo, africana (subsahariana), amerindia, caucasoide, mongoloide, neoguineana y australiana, o isleña del Pacífico.

[0835] Las moléculas que reconocen células de la presente invención que pueden administrar epítomos de células T CD8+ heterólogas de antígenos de CMV pueden ser particularmente efectivas porque la mayoría de la población humana tiene conjuntos específicos de células T CD8+ preparadas para reaccionar con antígenos de CMV y están reprimiendo constantemente las infecciones crónicas por CMV para permanecer asintomáticas durante toda su vida. Además, los seres humanos de edad avanzada pueden reaccionar aún más rápida y fuertemente a los epítomos de células T CD8+ del CMV debido a cambios relacionados con la edad en el sistema inmune adaptativo con respecto al CMV, como, por ejemplo, una vigilancia inmune potencialmente más enfocada hacia el CMV y como lo demuestran la composición del repertorio de receptores de antígenos de células T y los niveles relativos de CTL en seres humanos más ancianos (véase, por ejemplo, Koch S et al., *Ann NY Acad Sci* 1114: 23-35 (2007); Vescovini R et al., *J Immunol* 184: 3242-9 (2010); Cicin-Sain L et al., *J Immunol* 187: 1722-32 (2011); Fülöp T et al., *Front Immunol* 4: 271 (2013); Pawelec G, *Exp Gerontol* 54: 1- 5 (2014)).

[0836] La presente divulgación proporciona métodos in vitro (que no son parte de la presente invención reivindicada) para destruir una célula que comprende el paso de poner en contacto la célula con una molécula de reconocimiento de la célula o una composición farmacéutica de la presente invención. Las moléculas que reconocen células y las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar para destruir un tipo de célula específico al poner en contacto una célula o células con una de las composiciones de materia reivindicadas. En determinadas realizaciones, se puede usar una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención para destruir tipos de células específicos en una mezcla de diferentes tipos de células, tales como

mezclas que comprenden células cancerosas, células infectadas y/o células hematológicas. En determinadas realizaciones, se puede usar una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención para destruir células cancerosas en una mezcla de diferentes tipos de células. En determinadas realizaciones, se puede usar una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención para destruir tipos de células específicos en una mezcla de diferentes tipos de células, tales como tejidos previos al trasplante. En determinadas realizaciones, se puede usar una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención para destruir tipos de células específicos en una mezcla de tipos de células, tal como material de tejido previo a la administración con fines terapéuticos. En determinadas realizaciones, se puede usar una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención para destruir selectivamente células infectadas por virus o microorganismos, o destruir selectivamente de otro modo células que expresan una biomolécula diana extracelular particular, tal como una biomolécula de superficie celular. Las moléculas que reconocen células y las composiciones farmacéuticas de la presente invención tienen diversas aplicaciones, que incluyen, por ejemplo, usos para eliminar tipos de células no deseadas de tejidos ya sea in vitro o in vivo, usos como agentes antivirales, usos como agentes antiparasitarios y usos en la purga de tejidos trasplantados de tipos de células no deseadas. En determinadas realizaciones, se puede usar una molécula de reconocimiento de células y/o una composición farmacéutica de la presente invención para destruir tipos de células específicos en una mezcla de diferentes tipos de células, tal como material de tejido previo a la administración con fines terapéuticos, por ejemplo, preadministración. -tejidos de trasplante. En determinadas realizaciones, se puede usar una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención para destruir selectivamente células infectadas por virus o microorganismos, o destruir selectivamente de otro modo células que expresan una biomolécula diana extracelular particular, tal como una biomolécula de superficie celular.

[0837] La presente divulgación proporciona un método (que no forma parte de la presente invención reivindicada) para destruir una célula en un paciente que lo necesita, comprendiendo el método la etapa de administrar al paciente al menos una molécula de reconocimiento de células de la presente invención o una composición farmacéutica de la misma. En determinadas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o composiciones farmacéuticas de la misma, se pueden usar para destruir una célula infectada en un paciente dirigiéndose a una biomolécula extracelular que se encuentra físicamente acoplada con una célula infectada.

[0838] En ciertas realizaciones, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención o composiciones farmacéuticas de la misma se pueden usar para destruir una célula cancerosa en un paciente dirigiéndose a una biomolécula extracelular que se encuentra físicamente acoplada con una célula cancerosa o tumoral. Los términos "célula cancerosa" o "célula cancerosa" se refieren a diversas células neoplásicas que crecen y se dividen de una manera anormalmente acelerada y/o no regulada y quedarán claros para el experto. El término "célula tumoral" incluye tanto células malignas como no malignas. Generalmente, los cánceres y/o tumores pueden definirse como enfermedades, trastornos o afecciones que son susceptibles de tratamiento y/o prevención. Los cánceres y tumores (ya sean malignos o no malignos) que están compuestos por células cancerosas y/o células tumorales que pueden beneficiarse de los métodos y composiciones de la presente invención quedarán claros para el experto. Las células neoplásicas a menudo se asocian con uno o más de los siguientes: crecimiento desregulado, falta de diferenciación, invasión tisular local, angiogénesis y metástasis. Las enfermedades, trastornos y afecciones resultantes de cánceres y/o tumores (ya sean malignos o no malignos) que pueden beneficiarse de los métodos y composiciones de la presente invención dirigidos a ciertas células cancerosas y/o células tumorales quedarán claras para el experto. .

[0839] Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células y composiciones de la presente invención se pueden usar para destruir células madre cancerosas, células madre tumorales, células iniciadoras de cáncer premalignas y células iniciadoras de tumores, que comúnmente se dividen lentamente y resistentes a terapias contra el cáncer como la quimioterapia y la radiación. Por ejemplo, las leucemias mieloides agudas (AML) pueden tratarse con la presente invención matando células madre de AML y/o células progenitoras de AML latentes (véase, por ejemplo, Shlush Let al., Blood 120: 603-12 (2012)). Las células madre cancerosas a menudo sobreexpresan dianas de la superficie celular, tales como, por ejemplo, CD44, CD200 y otras enumeradas en el presente documento, que pueden ser dianas de ciertas regiones de unión de ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención (ver, por ejemplo, Kawasaki B et al., Biochem Biophys Res Commun 364:778-82 (2007); Reim F et al., CancerRes 69:8058-66 (2009)).

[0840] Debido al mecanismo de acción único basado en la subunidad A de la toxina Shiga, las composiciones de materia de la presente invención pueden usarse más eficazmente en métodos que implican su combinación con, o de manera complementaria con, otras terapias, tales como, por ejemplo, quimioterapias, inmunoterapias, radiación, trasplante de células madre e inhibidores de puntos de control inmunológico, y/o eficaces contra células tumorales/células iniciadoras de tumores/células madre quimiorresistentes/resistentes a la radiación y/o en reposo. De manera similar, las composiciones de materia de la presente invención pueden usarse más eficazmente en métodos que implican en combinación con otras terapias que reconocen células que reconocen objetivos distintos del mismo epítipo, no superpuestos o diferentes para el mismo trastorno o afección.

[0841] Ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células de la presente invención, o composiciones farmacéuticas de las mismas, se pueden usar para destruir una célula inmunitaria (ya sea sana o maligna) en un

paciente dirigiéndose a una biomolécula extracelular que se encuentra físicamente acoplada con una célula inmunitaria.

5 [0842] Está dentro del alcance de la presente divulgación utilizar una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o una composición farmacéutica de la misma, con el propósito de purgar poblaciones celulares (por ejemplo, médula ósea) de células malignas y/o neoplásicas y a continuación reinfundir el material empobrecido en células diana en un paciente que lo necesite.

10 [0843] Además, la presente invención proporciona el tratamiento de una enfermedad en un paciente usando una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos una de las moléculas que reconocen células de la presente invención, o una composición farmacéutica de la misma, como se define en las reivindicaciones. Las enfermedades contempladas que pueden tratarse incluyen cánceres, tumores, anomalías del crecimiento, trastornos inmunitarios e infecciones microbianas. La administración de una "dosis terapéuticamente eficaz" de una composición de la presente invención puede dar como resultado una disminución de la gravedad de los síntomas de la enfermedad, un aumento de la frecuencia y duración de los períodos libres de síntomas de la enfermedad o una prevención del deterioro o discapacidad debido a la enfermedad. aflicción.

15 [0844] La cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de la presente invención dependerá de la vía de administración, el tipo de sujeto que se está tratando y las características físicas del paciente específico bajo consideración. Estos factores y su relación para determinar esta cantidad son bien conocidos por los profesionales expertos en las técnicas médicas. Esta cantidad y el método de administración se pueden adaptar para lograr una eficacia óptima y pueden depender de factores tales como peso, dieta, medicación concurrente y otros factores, bien conocidos por los expertos en la técnica médica. Los tamaños de dosificación y el régimen de dosificación más apropiados para uso humano pueden guiarse por los resultados obtenidos por la presente invención y pueden confirmarse en ensayos clínicos diseñados adecuadamente. Se puede determinar una dosis y un protocolo de tratamiento eficaces por medios convencionales, comenzando con una dosis baja en animales de laboratorio y a continuación aumentando la dosis mientras se monitorean los efectos, y variando también sistemáticamente el régimen de dosificación. Un médico puede tener en cuenta numerosos factores al determinar una dosis óptima para un sujeto determinado. Tales consideraciones son conocidas por el experto.

20 [0845] Una vía de administración aceptable puede referirse a cualquier vía de administración conocida en la técnica, incluyendo, entre otras, aerosol, enteral, nasal, oftálmica, oral, parenteral, rectal, vaginal o transdérmica (por ejemplo, administración tópica de una crema, gel o pomada, o mediante parche transdérmico). La "administración parenteral" se asocia típicamente con la inyección en el sitio de acción previsto o en comunicación con él, incluido el sitio 25 infraorbitario, infusión, intraarterial, intracapsular, intracardiaco, intradérmico, intramuscular, intraperitoneal, intrapulmonar, intraespinal, intraesternal, intratecal, intrauterino, intravenoso, subaracnoideo., administración subcapsular, subcutánea, transmucosa o transtraqueal.

30 [0846] Para la administración de una composición farmacéutica de la presente invención, el rango de dosificación será generalmente de aproximadamente 0,001 a 10 miligramos por kilogramo (mg/kg), y más, normalmente de 0,001 a 0,5 mg/kg, del peso corporal del sujeto. Las dosis de ejemplo pueden ser 0,01 mg/kg de peso corporal, 0,03 mg/kg de peso corporal, 0,07 mg/kg de peso corporal, 0,09 mg/kg de peso corporal o 0,1 mg/kg de peso corporal o dentro del intervalo de 1-10 mg/kg. Un régimen de tratamiento de ejemplo es una administración una o dos veces al día, o una administración una o dos veces por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez al mes, una vez cada dos o tres meses o una vez cada tres a 6 meses. El profesional sanitario cualificado puede seleccionar y reajustar las dosis según sea necesario para maximizar el beneficio terapéutico para un paciente en particular.

35 [0847] Las composiciones farmacéuticas de la presente invención normalmente se administrarán al mismo paciente en múltiples ocasiones. Los intervalos entre dosis únicas pueden ser, por ejemplo, de 2 a 5 días, semanales, mensuales, cada dos o tres meses, cada seis meses o anualmente. Los intervalos entre administraciones también pueden ser irregulares, en función de la regulación de los niveles sanguíneos u otros marcadores en el sujeto o paciente. Los regímenes de dosificación para una composición de la presente invención incluyen la administración intravenosa de 1 mg/kg de peso corporal o 3 mg/kg de peso corporal con la composición administrada cada dos a cuatro semanas durante seis dosis, a continuación cada tres meses a 3 mg/kg de peso corporal. o 1 mg/kg de peso corporal.

40 [0848] Una composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar a través de una o más vías de administración, usando uno o más de una variedad de métodos conocidos en la técnica. Como apreciará el experto, la ruta y/o el modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados. Las vías de administración para moléculas que reconocen células, composiciones farmacéuticas y composiciones de diagnóstico de la presente invención incluyen, por ejemplo, vías de administración intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, espinal u otras vías de administración parenteral, por ejemplo mediante inyección o infusión. Para otras realizaciones, una molécula de reconocimiento de células, una composición farmacéutica y una composición de diagnóstico de la presente invención se pueden administrar por una vía no parenteral, tal como una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, intranasal, oral, vaginal., por vía rectal, sublingual o tópica.

[0849] Las moléculas terapéuticas que reconocen células de la presente invención, o composiciones farmacéuticas de las mismas, se pueden administrar con uno o más de una variedad de dispositivos médicos conocidos en la técnica. Por ejemplo, en una realización, una composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar con un dispositivo de inyección hipodérmica sin aguja. En la técnica se encuentran ejemplos de implantes y módulos bien conocidos útiles en la presente invención, que incluyen, por ejemplo, bombas de microinfusión implantables para una administración de velocidad controlada; dispositivos para administración a través de la piel; bombas de infusión para administrar una velocidad de infusión precisa; dispositivos de infusión implantables de flujo variable para la administración continua de fármacos; y sistemas osmóticos de administración de fármacos. Estos y otros implantes, sistemas de administración y módulos similares son conocidos por los expertos en la técnica.

[0850] En ciertas realizaciones, una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención, sola o en combinación con otros compuestos o composiciones farmacéuticas, puede mostrar una potente actividad de destrucción celular cuando se administra a una población de células, in vitro o in vivo. En un sujeto tal como en un paciente que necesita tratamiento. Al dirigirse a la administración del polipéptido efector de la toxina Shiga asociado con una carga de epítipo de células T CD8+ heteróloga utilizando regiones de unión de alta afinidad a tipos de células específicos, las actividades de destrucción celular mediadas por la presentación del epítipo de células T CD8+ efector de la toxina Shiga y/o pueden limitarse a destruir específica y selectivamente ciertos tipos de células dentro de un organismo, tales como ciertas células cancerosas, células neoplásicas, células malignas, células tumorales no malignas o células infectadas.

[0851] La molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o su composición farmacéutica, se puede administrar sola o en combinación con uno o más agentes terapéuticos o de diagnóstico diferentes. Una terapia combinada puede incluir una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o una composición farmacéutica de la misma, combinada con al menos otro agente terapéutico seleccionado en función del paciente, enfermedad o afección particular que se va a tratar. Ejemplos de otros agentes de este tipo incluyen, entre otros, un agente citotóxico, anticancerígeno o quimioterapéutico, un agente antiinflamatorio o antiproliferativo, un agente antimicrobiano o antiviral, factores de crecimiento, citoquinas, un analgésico, una pequeña molécula o polipéptido terapéuticamente activo. un anticuerpo de cadena única, un anticuerpo clásico o fragmento del mismo, o una molécula de ácido nucleico que modula una o más vías de señalización, y moléculas terapéuticas moduladoras similares que pueden complementar o ser beneficiosas de otro modo en un régimen de tratamiento terapéutico o profiláctico.

[0852] El tratamiento de un paciente con una molécula de reconocimiento de células o una composición farmacéutica de la presente invención conduce preferiblemente a la muerte celular de las células diana y/o a la inhibición del crecimiento de las células diana. Como tales, las moléculas que reconocen células de la presente invención, y las composiciones farmacéuticas que las comprenden, serán útiles en métodos para tratar una variedad de trastornos patológicos en los que destruir o agotar las células diana puede ser beneficioso, tales como, entre otros, cánceres, tumores., anomalías del crecimiento, trastornos inmunitarios y células infectadas. La presente divulgación proporciona métodos (que no forman parte de la presente invención reivindicada) para suprimir la proliferación celular y tratar trastornos celulares, incluyendo neoplasia y/o proliferación no deseada de ciertos tipos de células.

[0853] En ciertas realizaciones, las moléculas que reconocen células y las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden usar para tratar o prevenir cánceres, tumores (malignos y no malignos), anomalías del crecimiento, trastornos inmunológicos e infecciones microbianas. En un aspecto adicional de la divulgación, el método ex vivo anterior se puede combinar con el método in vivo anterior para proporcionar métodos (que no son parte de la presente invención reivindicada) para tratar o prevenir el rechazo en receptores de trasplantes de médula ósea, y para lograr objetivos inmunológicos. tolerancia.

[0854] En otro aspecto, las moléculas que reconocen células y las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden ser agentes reguladores endocrinos, lo que significa que son capaces de tratar y/o prevenir la adquisición, el desarrollo o las consecuencias de trastornos endocrinos resultantes de la hiposecreción de las glándulas endocrinas., hipersecreción de glándulas endocrinas y/o tumores glandulares endocrinos. La molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación puede comprender una región de unión que es una hormona o un análogo de hormona. La molécula de reconocimiento de células de la presente divulgación se puede usar en un método para reducir la hipersecreción de las glándulas endocrinas dirigiéndose a las células de las glándulas endocrinas y matándolas. Las moléculas que reconocen células y/o composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se pueden utilizar en un método para tratar una enfermedad endocrina que comprende la etapa de administrar a un paciente, que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de reconocimiento de células o un producto farmacéutico. composición de la presente divulgación. La enfermedad a tratar puede ser hipertiroidismo y/o hiperparatiroidismo.

[0855] En ciertas realizaciones, las moléculas que reconocen células y las composiciones farmacéuticas de la presente invención son agentes inmunomoduladores, lo que significa que son capaces de tratar y/o prevenir la adquisición, el desarrollo o las consecuencias de trastornos inmunológicos, como se define en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión que se une a la biomolécula diana extracelular que es un receptor de células T (TCR). En determinadas

realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención comprende una región de unión que es un tetrámero de MHC de clase I. En ciertas realizaciones adicionales, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención se usa en un método para reducir la actividad y/o viabilidad de linfocitos T citotóxicos CD8+ específicos implicados en un trastorno autoinmune. Las moléculas que reconocen células y/o composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden utilizar en un método para tratar un trastorno inmunológico que comprende la etapa de administrar a un paciente, que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de reconocimiento de células o un producto farmacéutico. composición de la presente invención, tal como se define en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones adicionales, el trastorno a tratar es el resultado de la destrucción del tejido por linfocitos T CD8+, tal como, por ejemplo, como resultado de una enfermedad relacionada con el aloinjerto.

[0856] Las moléculas que reconocen células y las composiciones farmacéuticas de la presente invención son comúnmente agentes antineoplásicos, lo que significa que son capaces de tratar y/o prevenir el desarrollo, la maduración o la propagación de células neoplásicas o malignas inhibiendo el crecimiento y/ o o causar la muerte de células cancerosas o tumorales. En ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos (que no son parte de la presente invención reivindicada) para tratar neoplasias malignas o neoplasias y otros cánceres asociados a células sanguíneas en un sujeto mamífero, tal como un ser humano, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto en necesidad de ello, una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de reconocimiento de células o composición farmacéutica de la presente invención.

[0857] En otro aspecto, ciertas realizaciones de las moléculas que reconocen células y composiciones farmacéuticas de la presente invención son agentes antimicrobianos, lo que significa que son capaces de tratar y/o prevenir la adquisición, el desarrollo o las consecuencias de infecciones patógenas microbiológicas, tales como causada por virus, bacterias, hongos, priones o protozoos.

[0858] Las moléculas que reconocen células y/o composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden utilizar en un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente, que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de reconocimiento de células o composición farmacéutica de la presente invención, tal como se define en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones, el cáncer que se está tratando se selecciona del grupo que consiste en: cáncer de huesos (tal como mieloma múltiple o sarcoma de Ewing), cáncer de mama, cáncer del sistema nervioso central/periférico (tal como cáncer de cerebro, neurofibromatosis o glioblastoma), gastrointestinal cáncer (como cáncer de estómago o cáncer colorrectal), cáncer de células germinales (como cánceres de ovario y cánceres testiculares, cáncer glandular (como cáncer de páncreas, cáncer de paratiroides, feocromocitoma, cáncer de glándulas salivales o cáncer de tiroides), cáncer de cabeza y cuello (como cáncer de nasofaringe, cáncer oral o cáncer de faringe), cánceres hematológicos (como leucemia, linfoma o mieloma), cáncer de riñón y del tracto urinario (como cáncer de riñón y cáncer de vejiga), cáncer de hígado, cáncer de pulmón/pleura (como como mesotelioma, carcinoma de pulmón de células pequeñas o carcinoma de pulmón de células no pequeñas), cáncer de próstata, sarcoma (como angiosarcoma, fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi o sarcoma sinovial), cáncer de piel (como carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas o melanoma) y cáncer de útero.

[0859] Las moléculas que reconocen células y las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden utilizar en un método para tratar un trastorno inmunológico que comprende administrar a un paciente, que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de la molécula de reconocimiento de células o composición farmacéutica de la presente invención, tal como se define en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones, el trastorno inmunológico está relacionado con una inflamación asociada con una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: amiloidosis, espondilitis anquilosante, asma, autismo, enfermedad de Crohn, diabetes, eritematoso, gastritis, rechazo de injerto, enfermedad de injerto contra huésped., enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, síndrome urémico hemolítico, enfermedades relacionadas con el VIH, lupus eritematoso, trastornos linfoproliferativos, esclerosis múltiple, miastenia gravis, neuroinflamación, poliarteritis nudosa, poliartritis, psoriasis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, esclerodermia, shock séptico, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa, vasculitis.

[0860] Entre ciertas realizaciones de la presente invención se encuentra el uso de la molécula de reconocimiento de células de la presente invención como un componente de una composición farmacéutica o medicamento para el tratamiento o prevención de un cáncer, tumor, otra anomalía del crecimiento, trastorno inmunológico y/o infección microbiana. Por ejemplo, los trastornos inmunológicos que se presentan en la piel de un paciente pueden tratarse con dicho medicamento en un esfuerzo por reducir la inflamación. En otro ejemplo, los tumores de piel pueden tratarse con dicho medicamento en un esfuerzo por reducir el tamaño del tumor o eliminarlo por completo.

[0861] La presente divulgación describe un método (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de usar una molécula de reconocimiento de células, una composición farmacéutica y/o una composición de diagnóstico descrita en el presente documento con el fin de recopilar información sobre enfermedades, afecciones y/o trastornos. Por ejemplo, la molécula de reconocimiento de células de la presente invención se puede usar para obtener imágenes de la presentación de pMHC I por parte de células tumorales usando anticuerpos específicos para ciertos pMHC Is. La detección de dichas células diana marcadas después de ser tratadas con una molécula de reconocimiento de células de la presente invención puede proporcionar una lectura con respecto a la competencia de un tipo de célula

diana en el procesamiento de antígenos y la presentación de MHC clase I, así como el porcentaje de dichas células diana competentes dentro de una población de células diana cuando se combina con lecturas de variantes de diagnóstico de las moléculas que reconocen células de la presente invención.

5 [0862] La presente divulgación describe un método (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de usar una molécula de reconocimiento de células, una composición farmacéutica y/o una composición de diagnóstico descrita en el presente documento para detectar la presencia de un tipo de célula con el propósito de Recopilación de información sobre enfermedades, afecciones y/o trastornos. El método comprende poner en contacto una célula con una cantidad suficiente para el diagnóstico de una molécula de reconocimiento de células descrita en el presente documento para detectar la molécula mediante un ensayo o técnica de diagnóstico. La frase "cantidad suficiente para el diagnóstico" se refiere a una cantidad que proporciona una detección adecuada y una medición precisa para fines de recopilación de información mediante el ensayo o técnica de diagnóstico particular utilizado. Generalmente, la cantidad suficiente para el diagnóstico para el uso diagnóstico in vivo de un organismo completo será una dosis no acumulativa de entre 0,01 mg y 10 mg del agente promotor de la detección unido a una molécula de reconocimiento de células descrita en el presente documento por kg de sujeto por sujeto. Normalmente, la cantidad de molécula de reconocimiento de células utilizada en estos métodos de recopilación de información será lo más baja posible siempre que siga siendo una cantidad suficiente para el diagnóstico. Por ejemplo, para la detección in vivo en un organismo, la cantidad de molécula de reconocimiento de células o composición de diagnóstico descrita en el presente documento administrada a un sujeto será lo más baja posible.

20 [0863] El direccionamiento específico de tipo celular de las moléculas que reconocen células de la presente invención combinado con agentes promotores de la detección proporciona una forma de detectar y obtener imágenes de células físicamente acopladas con una biomolécula diana extracelular de una región de unión de la molécula de la presente invención. Alternativamente, la presentación de una molécula de reconocimiento de células suministrada una carga de epitopo de células T CD8+ heteróloga puede proporcionar una forma de detectar y obtener imágenes de células que internalizaron una molécula de reconocimiento de células de la presente invención. La obtención de imágenes de células utilizando las moléculas que reconocen células y las composiciones de diagnóstico descritas en el presente documento se pueden realizar in vitro o in vivo mediante cualquier técnica adecuada conocida en la técnica. La información de diagnóstico se puede recopilar usando diversos métodos conocidos en la técnica, incluyendo imágenes de cuerpo entero de un organismo o usando muestras ex vivo tomadas de un organismo. El término "muestra" utilizado en el presente documento se refiere a una serie de cosas, entre otras, fluidos tales como sangre, orina, suero, linfa, saliva, secreciones anales, secreciones vaginales y semen, y tejidos obtenidos mediante procedimientos de biopsia. Por ejemplo, se pueden utilizar diversos agentes promotores de la detección para obtener imágenes de tumores in vivo no invasivos mediante técnicas tales como imágenes por resonancia magnética (MRI), métodos ópticos (tales como imágenes directas, fluorescentes y bioluminiscentes), tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), ultrasonido, tomografía computarizada por rayos X y combinaciones de las mencionadas anteriormente (ver, Kaur S et al., Cancer Lett 315: 97-111 (2012), para una revisión).

40 [0864] La presente divulgación describe un método (que no forma parte de la presente invención reivindicada) de usar una molécula de reconocimiento de células, una composición farmacéutica y/o una composición de diagnóstico descrita en el presente documento para marcar o detectar los interiores de células neoplásicas y/o células inmunes. tipos de células (ver, por ejemplo, Koyama Y et al., Clin Cancer Res 13: 2936-45 (2007); Ogawa M et al., Cancer Res 69: 1268-72 (2009); Yang L et al., Small 5 : 235-43 (2009)). Esto puede basarse en la capacidad de ciertas moléculas que reconocen células de la presente invención para entrar en tipos de células específicas y encaminarse dentro de las células mediante transporte intracelular retrógrado a compartimentos subcelulares específicos de modo que los compartimentos interiores de tipos de células específicos estén marcados para su detección. Esto se puede realizar en células in situ dentro de un paciente o in vitro en células y tejidos extraídos de un organismo, por ejemplo materiales de biopsia.

50 [0865] Las composiciones de diagnóstico descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada) se pueden usar para caracterizar una enfermedad, trastorno o afección como potencialmente tratable mediante una composición farmacéutica relacionada de la presente invención. Ciertas composiciones de materia de la presente invención se pueden usar para determinar si un paciente pertenece a un grupo que responde a una estrategia terapéutica que hace uso de una molécula de reconocimiento de células de la presente invención, o una composición de la misma, o un método relacionado como se describe en el presente documento o es muy adecuado para usar un dispositivo de administración de la divulgación.

60 [0866] Las composiciones de diagnóstico descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada) se pueden usar después de que se detecte una enfermedad, por ejemplo, un cáncer, para caracterizarla mejor, como para controlar las metástasis a distancia, la heterogeneidad y el estadio del cáncer. progresión. La evaluación fenotípica de una enfermedad o infección puede ayudar al pronóstico y la predicción durante la toma de decisiones terapéuticas. En caso de recurrencia de la enfermedad, se pueden utilizar ciertos métodos de divulgación para determinar si se trata de un problema localizado o sistémico.

65

[0867] Las composiciones de diagnóstico descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada) se pueden usar para evaluar las respuestas a terapias independientemente del tipo de terapia, por ejemplo, fármaco de molécula pequeña, fármaco biológico o terapia basada en células. Por ejemplo, ciertas realizaciones de las composiciones de diagnóstico de la divulgación se pueden usar para medir cambios en el tamaño del tumor, cambios en las poblaciones de células positivas al antígeno, incluido el número y la distribución, o monitorear un marcador diferente al antígeno al que se dirige una terapia que ya se está administrando a un paciente (véase Smith-Jones P et al., Nat. Biotechnol 22: 701-6 (2004); Evans M et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108: 9578-82 (2011)).

[0868] Las composiciones de diagnóstico descritas en el presente documento (que no forman parte de la presente invención reivindicada) se pueden usar para evaluar la funcionalidad del sistema MHC de clase I en tipos de células diana. Por ejemplo, ciertas células malignas, como las infectadas, tumorales o cancerosas, pueden presentar alteraciones, defectos y perturbaciones en sus vías de presentación de MHC de clase I. Esto se puede estudiar in vitro o in vivo. Las composiciones de diagnóstico de la divulgación se pueden usar para monitorear cambios en la presentación de MHC de clase I entre células individuales dentro de una población de células diana dentro de un organismo o para contar o determinar porcentajes de células diana defectuosas de presentación de MHC de clase I dentro de un organismo, biopsia de tumores, etc.

[0869] El método de la divulgación (que no forma parte de la presente invención reivindicada) se puede usar para detectar la presencia de un tipo de célula y se puede usar para recopilar información sobre enfermedades, trastornos y afecciones, tales como, por ejemplo, cáncer de huesos (como como mieloma múltiple o sarcoma de Ewing), cáncer de mama, cáncer del sistema nervioso central/periférico (como cáncer de cerebro, neurofibromatosis o glioblastoma), cáncer gastrointestinal (como cáncer de estómago o cáncer colorrectal), cáncer de células germinales (como cáncer de ovario y cánceres testiculares, cáncer glandular (como cáncer de páncreas, cáncer de paratiroides, feocromocitoma, cáncer de glándulas salivales o cáncer de tiroides), cáncer de cabeza y cuello (como cáncer de nasofaringe, cáncer oral o cáncer de faringe), cánceres hematológicos (como leucemia, linfoma o mieloma), cáncer de riñón y del tracto urinario (como cáncer de riñón y cáncer de vejiga), cáncer de hígado, cáncer de pulmón/pleura (como mesoteloma, carcinoma de pulmón de células pequeñas o carcinoma de pulmón de células no pequeñas), cáncer de próstata, sarcoma (como angiosarcoma, fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi o sarcoma sinovial), cáncer de piel (como carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas o melanoma), cáncer de útero, SIDA, amiloidosis, espondilitis anquilosante, asma, autismo, cardiogénesis, enfermedad de Crohn enfermedad, diabetes, eritematoso, gastritis, rechazo de injerto, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, síndrome urémico hemolítico, enfermedad relacionada con el VIH, lupus eritematoso, trastornos linfoproliferativos, esclerosis múltiple, miastenia gravis, neuroinflamación, poliarteritis nudosa, poliartritis, psoriasis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, esclerodermia, shock séptico, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa, vasculitis, proliferación celular, inflamación, activación de leucocitos, adhesión de leucocitos, quimiotaxis de leucocitos, maduración de leucocitos, migración de leucocitos, diferenciación neuronal, leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia/linfoma linfocítico agudo T (LLA), leucemia mielógena aguda, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica crónica de células B (B-CLL), linfoma prolinfocítico de células B, linfoma de Burkitt (BL), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML-BP), leucemia mieloide crónica (CML), linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular, leucemia de células pilosas (HCL), linfoma de Hodgkin (HL), linfoma intravascular de células grandes Linfoma de células B, granulomatosis linfomatoide, linfoma linfoplasmocítico, linfoma MALT, linfoma de células del manto, mieloma múltiple (MM), leucemia de células asesinas naturales, linfoma ganglionar marginal de células B, linfoma no Hodgkin (LNH), leucemia de células plasmáticas, plasmocitoma, linfoma de derrame primario, leucemia prolinfocítica, leucemia promielocítica, linfoma linfocítico pequeño, linfoma de la zona marginal esplénica, linfoma de células T (TCL), enfermedad de cadenas pesadas, gammapatía monoclonal, enfermedad por depósito de inmunoglobulinas monoclonales, síndromes mieloduplásticos (MDS), mieloma múltiple latente y macroglobulinemia de Waldenström.

[0870] Las moléculas que reconocen células de la presente divulgación, o composiciones farmacéuticas de las mismas, se pueden usar tanto para diagnóstico como para tratamiento, o solo para diagnóstico. En algunas situaciones, sería deseable determinar o verificar la(s) variante(s) de HLA y/o los alelos de HLA expresados en el sujeto y/o el tejido enfermo del sujeto, tal como, por ejemplo, un paciente que necesita tratamiento, antes de seleccionar una molécula de reconocimiento de células de la presente invención para uso en tratamiento(s). En algunas situaciones, sería deseable determinar, para un sujeto individual, la inmunogenicidad de ciertos epítomos de células T CD8+ antes de seleccionar qué molécula de reconocimiento de células, o composición de la misma, usar en un método de la presente divulgación.

[0871] La presente invención, como se define en las reivindicaciones, se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitantes de moléculas que reconocen células que comprenden las estructuras y funciones antes mencionadas, en particular la función de dirección extracelular para la administración de una célula T CD8+ carga de epítipo a células específicas y a continuación suministro intracelular de la carga de epítipo de células T CD8+ a la vía del MHC de clase I para la presentación de la carga de epítipo de células T CD8+ administrada formando complejos con moléculas de MHC de clase I en una superficie celular.

EJEMPLOS

[0872] Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga desinmunizados se pueden diseñar para suministrar péptidos epítomos inmunogénicos para su presentación por células en las que estos polipéptidos están presentes. Además, los polipéptidos efectores de la toxina Shiga desinmunizados que son resistentes a la escisión por furina también se pueden diseñar para suministrar péptidos epítomos inmunogénicos para su presentación por las células diana. Las moléculas que reconocen células que comprenden dichos polipéptidos efectores de toxina Shiga desinmunizados proporcionan el suministro dirigido de epítomos a células específicas y pueden usarse en aplicaciones que implican la presentación específica de tipo celular de epítomos inmuoestimuladores dentro de un cordado. La presentación de un epítomo inmunogénico de células T por el sistema MHC de clase I dentro de un cordado reconoce la célula presentadora del epítomo para destruirla mediante lisis mediada por CTL CD8+ y también puede estimular otras respuestas inmunitarias en las proximidades.

[0873] En los Ejemplos, se fusionaron antígenos de células T CD8+ a moléculas que reconocen células que comprenden polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizados y resistentes a la escisión por furina. Todos estos polipéptidos de fusión implican la adición de al menos un péptido al armazón polipeptídico inicial y no requieren la inclusión o inserción de ningún epítomo heterólogo de células T CD8+ internamente dentro de un componente polipeptídico efector de la toxina Shiga, aunque pueden estar presentes otro epítomo de células T CD8+ heterólogo incluidos o incluido en el polipéptido efector de la toxina Shiga desinmunizado. Por lo tanto, en ciertas moléculas de ejemplo que reconocen células, el polipéptido efector de la toxina Shiga consiste en un polipéptido de toxina Shiga desinmunizado que puede además ser resistente a la escisión con furina y/o comprender uno o más epítomos de células T CD8+ incluidos o incluidos.

[0874] Los ejemplos siguientes describen moléculas de ejemplo que reconocen células que comprenden (1) una región de unión de tipo inmunoglobulina para el reconocimiento celular, (2) un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado y resistente a la escisión por furina, y (3) un carga que consiste en un péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogo fusionado que no está incluido ni incluido en una región de polipéptido efector de toxina Shiga, en el que la carga de epítomo de células T CD8+ está posicionada en el extremo carboxilo con respecto al extremo carboxilo de la región del polipéptido efector de la toxina Shiga. Estas moléculas de ejemplo que reconocen células se unen a biomoléculas diana expresadas por tipos de células diana y entran en las células diana. A continuación, las moléculas que reconocen células de ejemplo internalizadas dirigen eficazmente sus componentes polipeptídicos efectores de la toxina Shiga al citosol y, de manera opcional, destruyen las células diana directamente mediante la inhibición de los ribosomas.

[0875] Los siguientes ejemplos demuestran que una molécula de reconocimiento de células de ejemplo suministró, dentro de las células diana, su carga de epítomo de células T CD8+ heterólogo fusionado a la vía del MHC de clase I, lo que dio como resultado la presentación del péptido-epítomo de células T en la superficie de las células diana. La expresión en la superficie celular de epítomos de células T suministrados en complejo con moléculas de MHC de clase I por una célula diana puede enviar señales a las células T efectoras CD8+ para que destruyan las células diana que muestran el epítomo, así como para estimular otras respuestas inmunitarias en las proximidades de la célula diana que expresa el epítomo.

[0876] Tal como se demuestra a continuación en el Ejemplo 1, una molécula de reconocimiento de células era capaz, tras la administración exógena, de suministrar un péptido-epítomo de células T heterólogo a la vía del MHC de clase I para su presentación por células cancerosas humanas diana. También se demuestra a continuación en los Ejemplos 1-2, dos moléculas que reconocen células eran capaces de destruir específicamente células cancerosas humanas que expresaban diana a través de sus componentes polipeptídicos efectores de toxina Shiga desinmunizados y resistentes a la escisión por furina. Tal como se demuestra más adelante en el Ejemplo 2, otras dos moléculas que reconocen células fueron capaces de destruir células cancerosas humanas que expresan dianas mediante la acción de células inmunes en experimentos de cocultivo de PBMC humanas. Además, el Ejemplo 2 demuestra que una molécula de reconocimiento de células catalíticamente activa puede destruir más células cancerosas humanas que expresan dianas cocultivadas con PBMC humanas que una molécula de referencia catalíticamente activa que carece de cualquier carga de epítomo de células T CD8+ heterólogo, lo que sugiere que la inducción directa de mecanismos de destrucción intercelular de células T directa e indirecta pueden lograr una mayor destrucción de células diana en presencia de células T restringidas específicas del epítomo de MHC de clase I apropiadas.

Ejemplo 1. Moléculas que reconocen células que comprenden polipéptidos derivados de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizados y resistentes a la escisión por furina y péptidos-epítomos de células T fusionados

[0877] Se crean y prueban moléculas que reconocen células: cada una de las moléculas que reconocen células comprende 1) una región de unión de reconocimiento de células, 2) un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado que es de manera opcional resistente a la escisión por furina, y 3) al menos una carga de epítomo de células T que consiste en un péptido-epítomo de células T CD8+ heterólogo fusionado que no está incluido ni incluido en una región de polipéptido efector de toxina Shiga. Previamente, se construyeron moléculas que reconocen células derivadas de la subunidad A de la toxina Shiga y se demostró que promueven la internalización celular y el enrutamiento intracelular directo de sus componentes polipeptídicos efectores de la toxina Shiga al citosol (véanse, por ejemplo, los documentos WO 2014/164680, WO 2014/164693, WO 2015) /138435, WO 2015/138452, WO 2015/113005, WO 2015/113007, WO 2015/191764, WO 2016/196344 y WO 2018/106895). Los péptidos-epítomos de

células T se fusionan a componentes polipeptídicos modulares de estas moléculas que reconocen células derivadas de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizadas y/o resistentes a la escisión por furina para crear nuevas moléculas que reconocen células, teniendo cada una de las cuales al menos un péptido-epítipo de células T que no está incluido ni incluido en un componente derivado del fragmento de la toxina Shiga A1 y que es heterólogo al componente de la subunidad A de la toxina Shiga (ver, por ejemplo, el documento WO 2017/019623).

[0878] Tal como se demuestra a continuación en este ejemplo, una proteína de reconocimiento de células era capaz, tras la administración exógena, de suministrar un péptido-epítipo de células T heterólogo a la vía del MHC de clase I para su presentación por células cancerosas humanas diana. También se demuestra más adelante en este ejemplo que una proteína de reconocimiento de células era capaz de destruir específicamente células cancerosas humanas que expresaban diana a través de su componente polipeptídico efector de toxina Shiga desinmunizado y resistente a la escisión por furina. La región de unión de reconocimiento de células de la proteína de reconocimiento de células de ejemplo de este Ejemplo fue capaz de exhibir unión de alta afinidad a una biomolécula diana extracelular físicamente acoplada a la superficie de uno o varios tipos de células específicos. La proteína de reconocimiento de células de ejemplo de este ejemplo es capaz de dirigirse selectivamente a células que expresan una biomolécula diana de su región de unión de reconocimiento de células e internalizarse en estas células diana.

I. Construcción de moléculas que reconocen células de ejemplo

[0879] Usando técnicas conocidas en el sector, se crean proteínas de fusión que reconocen células de ejemplo fusionando genéticamente un péptido-epítipo de células T CD8+ humanas al extremo amino (terminal N) o al extremo carboxilo (terminal C) de un componente polipeptídico de una proteína parental de reconocimiento de células que comprende 1) un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizado y resistente a la escisión por furina y 2) un polipéptido de la región de unión de reconocimiento de células separado por un enlazador proteico. Las cargas de epítipos de células T CD8+ fusionadas se eligen entre varios epítipos-péptidos de células T que se originan en virus que comúnmente infectan a los seres humanos. Las proteínas de fusión resultantes, que reconocen células, se construyen de manera que cada una comprenda un único polipéptido continuo que comprende un polipéptido de región de unión de reconocimiento de células, un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizado y resistente a la escisión por furina, y una carga de epítipo de células T CD8+ heterólogo fusionado.

[0880] Una molécula de reconocimiento de células puede comprender (1) una región de unión de tipo inmunoglobulina para reconocimiento celular, (2) un polipéptido efector de toxina Shiga desinmunizado y resistente a la escisión por furina, y (3) una carga que consiste en un péptido-epítipo de células T CD8+, heterólogo, fusionado, que no está incluido ni incluido en una región polipeptídica efectora de toxina Shiga. Los tres componentes pueden elegirse de la técnica anterior o crearse utilizando métodos rutinarios conocidos por el experto (véanse, por ejemplo, los documentos WO 2014/164680, WO 2014/164693, WO 2015/138435, WO 2015/138452, WO 2015/113005, WO 2015/113007, WO 2015/191764, WO 2016/196344 y WO 2018/106895).

[0881] Las regiones de unión de tipo inmunoglobulina se han descrito previamente en los documentos WO 2014/164680, WO 2014/164693, WO 2015/138435, WO 2015/138452, WO 2015/113005, WO 2015/113007, WO 2015/191764 y WO 2016/196344.

[0882] Los polipéptidos efectores de la toxina Shiga desinmunizados y resistentes a la escisión por furina se han descrito previamente en los documentos WO 2015/113007, WO 2015/191764 y WO 2016/196344.

[0883] Los epítipos-péptidos de células T CD8+ heterólogos se han descrito previamente en los documentos WO 2015/113005 y WO 2016/196344.

[0884] En este Ejemplo, se seleccionan enlazadores proteicos de la técnica anterior para unir los componentes.

[0885] Todos los componentes polipeptídicos efectores de la toxina Shiga de las moléculas que reconocen células de este ejemplo se derivan de los aminoácidos 1-251 de SLT-1A (SEQ ID NO: 1), y algunos de ellos contenían dos o más sustituciones de residuos de aminoácidos relativas a una subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje, tales como, por ejemplo, sustituciones desinmunizantes y/o sustituciones que alteran el motivo de escisión por furina (véanse, por ejemplo, los documentos WO 2015/113007, WO 2015/191764 y WO 2016/196344). Los componentes polipeptídicos efectores de la toxina Shiga de las moléculas que reconocen células de la presente invención son la SEQ ID NO: 30, tal como se indica en las reivindicaciones.

[0886] Todas las moléculas que reconocen células analizadas en los experimentos de este ejemplo se produjeron en un sistema bacteriano y se purificaron mediante cromatografía en columna usando técnicas conocidas por el experto.

[0887] La molécula de reconocimiento de células de ejemplo que se produjo y probó en este ejemplo fue SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252). Esta proteína de fusión de ejemplo de reconocimiento de células comprendía una región de unión de reconocimiento de células que comprende un componente de fragmento variable de cadena única (scFv1), un componente polipeptídico efector de la subunidad A de la toxina Shiga desinmunizado y resistente a la escisión por furina (SLT-1A-DI -FR), y un péptido-epítipo de células T CD8+ humanas (C2) fusionado a la región de

unión. La región de unión de tipo inmunoglobulina scFv1 es un fragmento variable de cadena única que se une con alta afinidad a una determinada biomolécula diana de la superficie celular acoplada físicamente a la superficie de determinadas células cancerosas humanas. El componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de células de este ejemplo fue SLT-1A-DI-FR (SEQ ID NO: 29). Se sabía que el péptido-epítipo C2 (SEQ ID NO: 21) seleccionado como carga fusionada era inmunogénico. La molécula de reconocimiento de células SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252) se produjo en un sistema bacteriano y se purificó mediante cromatografía en columna usando técnicas conocidas por el experto.

[0888] Después de la purificación, se probó el estado multimérico de la molécula de reconocimiento de células SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252) usando cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) y electroforesis en gel de poliacrilamida y dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) en condiciones desnaturalizantes.

[0889] Se analizó mediante SEC una muestra de proteína SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO: 258) usando una columna Superdex 200 30/300 (GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido) que tenía un volumen de lecho de 24 ml. La muestra se cargó en la columna y se hicieron fluir al menos 24 ml de tampón sobre la columna mientras un detector de luz ultravioleta (UV) monitorizaba la elución de la proteína mediante absorbancia a 280 nm indicada como unidades de miliabsorbancia (mAU). Las moléculas con pesos moleculares más pequeños se retrasan cuando fluyen a través de matrices utilizadas para la cromatografía de exclusión por tamaño en comparación con las moléculas más grandes y, por lo tanto, las moléculas pequeñas exhiben tiempos de conservación de cromatografía de exclusión por tamaño más largos que las moléculas más grandes. Utilizando las velocidades de elución de proteínas de masas moleculares conocidas sometidas a cromatografía de exclusión por tamaño con la misma columna y condiciones que las referencias, se estimó la masa molecular de la muestra de proteína SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO: 258) en condiciones nativas.

[0890] La muestra de SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO: 258) analizada produjo un pico primario correspondiente a una conservación de 13,2 ml, que según las proteínas de referencia de masas conocidas corresponde a una masa molecular de aproximadamente 110 kiloDalton (kDa) (Figura 4), lo que era consistente con una proteína homodimérica de 110 kDa que comprende dos polipéptidos, cada uno con una masa de 55 kDa. Mediante este análisis SEC, se mide que una muestra de proteína SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252) tiene aproximadamente el mismo tamaño, que parece congruente con una molécula de aproximadamente 110 kDa que consiste en dos polipéptidos que tienen cada uno una masa de 55 kDa (ver más abajo).

[0891] Se cargaron muestras de proteínas de SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252) y SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO: 258) en cantidades iguales en geles de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS) al 4-20% (Lonza, Basilea, CH) y se sometieron a electroforesis en condiciones desnaturalizantes (Figura 5). Los geles resultantes se analizaron mediante tinción de Coomassie. Se cargó un marcador de peso molecular (MW) (ProSeive™ QuadColor™, Lonza, Basilea, CH) para indicar el peso molecular aproximado de las proteínas cargadas en el gel. En estas condiciones desnaturalizantes, se esperaba que cualquier complejo proteico multimérico se disociara en polipéptidos monoméricos. Tanto las muestras de SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 como SLT-1A-DI-FR::scFv1 formaron bandas con pesos moleculares aparentes de aproximadamente 55 kDa (Figura 5), que corresponde al peso molecular aproximado del masa proteica predicha para SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252) o SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO: 258) por tener 508 y 500 aminoácidos, respectivamente.

II. Prueba de los componentes del polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga de moléculas que reconocen células para la conservación de las funciones de la toxina Shiga después de la fusión de regiones de unión y péptidos-epítipos de células T

[0892] Se prueban proteínas que reconocen células de ejemplo para determinar la conservación de funciones efectoras de la subunidad A de la toxina Shiga después de la fusión de péptidos-epítipos de células T CD8+ heterólogos. Las funciones efectoras de la subunidad A de la toxina Shiga analizadas fueron la citotoxicidad y, por inferencia, el enrutamiento subcelular autodirigido al citosol.

Prueba de las actividades citotóxicas de moléculas que reconocen células de ejemplo

[0893] Las actividades citotóxicas de moléculas que reconocen células de ejemplo se miden usando un ensayo de toxicidad basado en células de cultivo de tejidos. Para determinadas moléculas que reconocen células se determinó la concentración de molécula de reconocimiento de células administrada exógenamente que destruye la mitad de las células en una población celular homogénea (concentración citotóxica semimáxima). Las citotoxicidades de moléculas que reconocen células de ejemplo se prueban usando ensayos de destrucción celular que involucran células con biomolécula diana positiva o con biomolécula diana negativa con respecto a la biomolécula diana de la región de unión de cada molécula de reconocimiento de células.

[0894] Las células diana utilizadas en este ejemplo (líneas celulares A, B y C) fueron células cancerosas humanas inmortalizadas disponibles en ATCC (Manassas VA, EE. UU.) o DSMZ (The Leibniz Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulture) (Braunschweig, DE)).

[0895] Los ensayos de destrucción celular se realizaron de la siguiente manera. Se sembraron células de líneas celulares de tumores humanos (normalmente a 2×10^3 células por pocillo para células adherentes, sembradas en placas el día antes de la adición de proteínas, o $7,5 \times 10^3$ células por pocillo para células en suspensión, sembradas en placas el mismo día de la adición de proteínas) en 20 μ L de medio de cultivo celular en placas de 384 pocillos. Se preparó una serie de diluciones de 10 veces de las proteínas a analizar en un tampón apropiado y se añadieron a las células 5 μ L de las diluciones o el tampón solo como control negativo. Se utilizaron pocillos de control que contenían únicamente medio de cultivo celular para la corrección de la referencia. Las muestras de células se incubaron con las proteínas o simplemente con tampón durante 3 o 5 días a 37 °C y en una atmósfera de 5 % de dióxido de carbono (CO₂). La supervivencia celular total o el porcentaje de viabilidad se determinaron mediante una lectura luminiscente utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (G7573 Promega Madison, WI, EE. UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, medida en unidades relativas de luz (ULR).

[0896] El porcentaje de viabilidad de los pocillos experimentales se calculó usando la siguiente ecuación: (ULR de prueba - ULR de medio promedio) / (ULR de células promedio - ULR de medio promedio) * 100. La concentración logarítmica de proteína versus el porcentaje de viabilidad se representó en Prism (GraphPad Prism, San Diego, CA, EE. UU.) y se utilizaron análisis log (inhibidor) versus respuesta (3 parámetros) para determinar el valor de concentración citotóxica semimáxima (CD₅₀) para las proteínas analizadas. Cuando fue posible, se calcularon los valores de CD₅₀ para cada proteína de reconocimiento de células analizada.

[0897] La especificidad de la actividad citotóxica de una determinada molécula de reconocimiento de células se determinó comparando las actividades de destrucción celular hacia células que expresan una cantidad significativa de una biomolécula diana de la región de unión de la molécula de reconocimiento de células (células diana positivas) con actividades de destrucción celular hacia células que no exhiben ninguna cantidad significativa de ninguna biomolécula diana de la región de unión de la molécula de reconocimiento de células físicamente acoplada a cualquier superficie celular (células diana negativas). Esto se logró determinando las concentraciones citotóxicas semimáximas de una determinada molécula de reconocimiento de células hacia poblaciones celulares que eran positivas para la expresión en la superficie celular de la biomolécula diana de la molécula de reconocimiento de células que se estaba analizando y, a continuación, usando el mismo intervalo de concentración de molécula de reconocimiento de células para intentar determinar las concentraciones citotóxicas semimáximas hacia poblaciones celulares que fueron negativas para la expresión en la superficie celular de la biomolécula diana de la molécula de reconocimiento de células. En algunos experimentos, las células diana negativas tratadas con la cantidad máxima de la molécula que contiene toxina Shiga no mostraron ningún cambio en la viabilidad en comparación con un control negativo con "tampón solo".

[0898] Los niveles de actividad citotóxica de diversas moléculas probadas usando el ensayo de destrucción celular descrito anteriormente se indican en la Tabla 1. Tal como se indica en la Tabla 1, las proteínas que reconocen células de ejemplo que se probaron en este ensayo exhibieron una citotoxicidad potente. Si bien la fusión de un péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ con una proteína de reconocimiento de células derivada de la toxina Shiga no puede producir ningún cambio en la citotoxicidad, algunas proteínas que reconocen células mostraron una citotoxicidad reducida en comparación con la proteína parental de la que se obtuvieron, que no comprendía ningún péptido-epítipo heterólogo fusionado (Tabla 1). Tal como se indica en los Ejemplos, una molécula que exhibe un valor de CD₅₀ dentro de 10 veces de un valor de CD₅₀ medido para una molécula de referencia se considera que exhibe una actividad citotóxica comparable a esa molécula de referencia. En particular, cualquier molécula de reconocimiento de células que exhiba un valor de CD₅₀ para una población de células diana positivas dentro de 10 veces del valor de CD₅₀ de una molécula de reconocimiento de células de referencia que comprende la misma región de unión y un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje (por ejemplo, SLT-1A-WT (SEQ ID NO: 279)), pero que no comprende ningún péptido-epítipo de células T heterólogo fusionado, hacia el mismo tipo de célula se denomina en el presente documento "comparable al tipo salvaje". Las moléculas que reconocen células que exhibieron un valor de CD₅₀ para una población de células diana positivas dentro de 100 a 10 veces de una molécula de referencia que comprende la misma región de unión y el mismo polipéptido efector de la toxina Shiga, pero que no comprende ningún péptido-epítipo de células T heterólogo fusionado, se hace referencia en el presente documento como activo, pero "atenuado".

Tabla 1. Actividades citotóxicas de las proteínas que reconocen células derivadas de la toxina Shiga que comprenden péptidos-epitopos heterólogos fusionados

Molécula administrada	Epítipo fusionado	Localización de la fusión	Línea celular A (diana positiva)	Línea celular B (diana positiva)	Línea celular C (diana positiva)
SLT-1A-DI- FR:: scFv1::C2	C2	Carboxi terminal	0,22	0,91	0,86
SLT-1A-DI- FR:: scFv1	ninguno	ND	0,022	0,21	0,18

[0899] La Tabla 1 y la Figura 2 muestran que SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252) exhibe una citotoxicidad para tres tipos diferentes de células diana positivas con una actividad citotóxica similar a una proteína parental que carece del antígeno fusionado C2 (SEQ ID NO: 258).

III. Prueba del suministro de epítomos-péptidos y la presentación en la superficie celular de los epítomos-péptidos suministrados por las células diana

[0900] El suministro exitoso de un epítomo de células T se puede determinar mediante la detección de complejos de molécula de MHC de clase I/epítomo específicos en la superficie celular (pMHC Is). Para probar si una proteína de reconocimiento de células puede suministrar un epítomo de células T fusionado a la vía de presentación del MHC de clase I de las células diana, se empleó un ensayo que detecta moléculas de MHC de clase I humanas complejadas con epítomos específicos. Se utilizó un método de citometría de flujo para demostrar el suministro de un epítomo de células T (fusionado a una proteína de reconocimiento de células derivada de la subunidad A de la toxina Shiga desimmunizada y resistente a la escisión por furina) y la presentación extracelular del péptido-epítomo de células T en complejo con moléculas de MHC Clase I en la superficies de las células diana. Este método de citometría de flujo utiliza reactivos multímeros del receptor de células T (TCR) humanos solubles (Soluble T-Cell Antigen Receptor STAR™ Multimer, Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.), cada uno con unión de alta afinidad a un complejo diferente de epítomo-HLA humano.

[0901] Cada reactivo multímero de TCR STAR™ se deriva de un receptor de células T específico y permite la detección de un complejo péptido-MHC específico basándose en la capacidad del TCR elegido para reconocer un péptido específico presentado en el contexto de una molécula particular de MHC clase I. Estos multímeros de TCR están compuestos de TCR humanos recombinantes que han sido biotinilados y multimerizados con estreptavidina. Los multímeros de TCR están marcados con ficoeritrina (PE). Estos reactivos de multímero de TCR permiten la detección de complejos específicos de péptido-MHC Clase I presentados en las superficies de células humanas porque cada tipo de multímero de TCR soluble reconoce y se une de manera estable a un complejo de péptido-MHC específico en condiciones variadas (Zhu X et al., J. Immunol 176: 3223-32 (2006)). Estos reactivos multímeros de TCR permiten la identificación y cuantificación mediante citometría de flujo de complejos péptido-MHC de clase I presentes en las superficies de las células.

[0902] En este ejemplo se usó el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ (Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.). La presentación de la ruta MHC de clase I del péptido C2 de CMV humano (NLVPMVATV (SEQ ID NO: 21)) por células humanas que expresan HLA-A2 se puede detectar con el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ que exhibe un reconocimiento de alta afinidad del péptido-epítomo CMV-pp65 (residuos 495-503, NL VPMV ATV) formando un complejo con HLA-A2 humano y está marcado con PE.

[0903] Utilizando métodos de citometría de flujo estándar conocidos en la técnica, se confirmó que las células diana expresaban en sus superficies celulares tanto la molécula de MHC-Clase I HLA-A2 como las biomoléculas diana extracelulares de las proteínas que reconocen células utilizadas en este ejemplo. En algunos experimentos, las células cancerosas humanas se trataron previamente con interferón gamma humano (IFN-γ) para mejorar la expresión del HLA-A2 humano

[0904] Se trataron conjuntos de células diana mediante administración exógena de SLT-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252), una molécula de reconocimiento de células que comprende un epítomo de células T CD8+ viral, fusionada en carboxi-terminal, o se trataron mediante administración exógena de una proteína de fusión de reconocimiento de células de control negativo que no comprendía ningún péptido-epítomo viral heterólogo fusionado, SLTA-1A-DI-FR::scFv 1 (SEQ ID NO: 258). Las moléculas que reconocen las células y las moléculas de referencia utilizadas en estos experimentos eran moléculas que reconocen las células citotóxicas y catalíticamente activas. Estos tratamientos se realizaron en concentraciones de moléculas que reconocen células similares a las utilizadas por otros, teniendo en cuenta las sensibilidades específicas del tipo celular a las toxinas Shiga (ver, por ejemplo, el documento WO 2015/113005). A continuación, las células tratadas se incubaron durante 4 a 16 horas en condiciones estándar, incluso a 37 °C y una atmósfera con 5 % de dióxido de carbono, para permitir la intoxicación mediada por un polipéptido efector de la toxina Shiga desimmunizado y resistente a la escisión por furina. A continuación, las células se lavaron y se incubaron con el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ para "teñir" las células presentadoras del complejo péptido C2-HLA-A2.

[0905] Como controles, se trataron conjuntos de células diana en tres condiciones: 1) sin ningún tratamiento ("sin tratar"), lo que significa que solo se agregó tampón a las células y no se agregó ninguna molécula exógena, 2) con péptido C2 de CMV administrado exógenamente (CMV-pp65, aa 495-503: secuencia NLVPMVATV (SEQ ID NO: 21), sintetizado por BioSynthesis, Lewisville, TX, EE. UU.), y/o 3) con péptido C2 de CMV administrado exógenamente ((SEQ ID NO: 21), como antes) combinado con un potenciador de carga de péptidos ("PLE", Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.). El péptido C2 (SEQ ID NO: 21) combinado con el tratamiento con PLE permitió la carga de péptido exógeno y sirvió como control positivo. Las células que presentan el haplotipo MHC de clase I apropiado pueden verse obligadas a cargar el péptido aplicado exógenamente apropiado desde un espacio extracelular (es decir, en ausencia de internalización celular del péptido aplicado) o en presencia de PLE, que es una mezcla de microglobulina B2 y otros componentes.

[0906] Después de los tratamientos, todos los conjuntos de células se lavaron y se incubaron con el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ durante una hora en hielo. Las células se lavaron y la fluorescencia de las muestras se midió mediante citometría de flujo usando un citómetro de flujo Accuri™ C6 (BD Biosciences, San Jose, CA, EE. UU.)

para detectar la presencia y cuantificar cualquier multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ unido a células de la población (a veces denominado en el presente documento "tinción") en unidades de luz relativas (ULR).

[0907] La Tabla 2 y las Figuras 4-8 muestran los resultados de experimentos que utilizan el ensayo TCR STAR™ que detecta complejos en superficie celular de epítipo C2/molécula MHC de clase I HLA-A2. Para cada experimento, la muestra de control no tratada se usó para identificar las poblaciones de células positivas y negativas empleando una puerta que da como resultado menos del 1 % de las células del control no tratado en la puerta "positiva" (que representa la señal de fondo). A continuación se aplicó la misma puerta a las otras muestras para caracterizar la población positiva para cada muestra. Las células positivas en este ensayo fueron células que se unieron mediante el reactivo TCR-CMV-pp65-PE STAR™ y se contaron en la puerta positiva descrita anteriormente.

[0908] En la Figura 3, el histograma de citometría de flujo se proporcióna con los recuentos de células (número de células o simplemente "recuentos") en el eje Y y las unidades fluorescentes relativas (UFR) que representan el multímero TCR CMV-pp65 STAR™, señal de tinción con PE en el eje X (escala logarítmica). La línea negra muestra los resultados de la muestra solo de células no tratadas, y la línea gris muestra los resultados de los controles negativos (tratamiento con solo una proteína parental de reconocimiento de células que carece de cualquier péptido-epítipo viral), o el tratamiento con una proteína específica, de ejemplo, de reconocimiento de células. En la Figura 3, el panel superior muestra los resultados de las muestras de células no tratadas usando una línea negra y los resultados para las muestras tratadas con la molécula de reconocimiento de células con un antígeno fusionado, SLTA-1A-DI-FR::scFv1::C2, usando una línea gris. En la Figura 3, el panel central muestra los resultados de las muestras de células no tratadas usando una línea negra y los resultados de la proteína de control, SLTA-1A-DI-FR::scFv1, que no comprendía ningún péptido-epítipo fusionado, usando una línea gris. En la Figura 3, el panel inferior muestra los resultados de la proteína de control, SLTA-1A-DI-FR::scFv1, que no comprendía ningún péptido-epítipo fusionado, utilizando una línea negra y los resultados para las muestras tratadas con molécula de reconocimiento de células con el epítipo fusionado, SLTA-1A-DI-FR::scfv1::C2, usando una línea gris.

Tabla 2. Detección de complejos de epítipo C2/MHC de clase I en la superficie celular después del suministro de péptidos-epítipo C2 mediante proteínas que reconocen células: complejos de péptido-epítipo C2/MHC de clase I detectados en las superficies de células diana intoxicadas.

Proteína	Tipo de células positiva diana	Duración de la incubación (horas)	Porcentaje de células presentadoras de complejo pMHC I	IMFI (UFR)
Experimento 1				
SLTA-1A-DI-FR::scFv1::C2	Línea celular B	16 horas	35,0 %	10.090
SLTA-1A-DI-FR::scFv2	Línea celular B	16 horas	4,8 %	964
Sin proteína	Línea celular B	16 horas	0 %	14

[0909] Tal como se observa en la Tabla 2 y la Figura 3, las muestras de células tratadas con una proteína de reconocimiento de células de ejemplo (SEQ ID NO: 252) mostraron la expresión del complejo de epítipo C2/molécula MHC de clase I HLA-A2 en las superficies de las células tratadas. Por el contrario, las células que se trataron con la proteína de reconocimiento de células parentales SLT-1A-DI-FR::scFv1 (SEQ ID NO: 258), que no contenía ningún péptido-epítipo de células T fusionado como control negativo, exhibieron tinción celular positiva de menos del cinco por ciento de las células en la población de células tratadas (Tabla 2; Figura 3). Debido a la eficiencia y la cinética del procesamiento, que no se midieron, es posible que el porcentaje de complejos de epítipo C2/HLA-A2 presentados detectados en un único punto de tiempo en una muestra de tratamiento con "proteína de reconocimiento de células" no refleje con precisión la cantidad máxima de presentación de epítipo C2/HLA-A2 posible después del suministro por una proteína de reconocimiento de células de ejemplo determinada.

[0910] La detección del epítipo C2 de células T (SEQ ID NO: 21) complejoado con moléculas de MHC de clase I humanas (péptido-epítipo C2/HLA-A2) en la superficie celular de células diana tratadas con moléculas que reconocen células demostró que la proteína de reconocimiento de células de ejemplo SLTA-1A-DI-FR::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 252) que comprende este péptido-epítipo C2 fusionado (SEQ ID NO: 21) y un polipéptido efector de la toxina Shiga resistente a la escisión por furina desinmunizado fueron capaces de entrar en las células diana, realizar un enrutamiento subcelular suficiente y suministrar suficiente epítipo C2 (SEQ ID NO: 21) a la vía del MHC de clase I para la presentación en la superficie por parte de las células diana.

IV. Prueba de citólisis mediada por células T citotóxicas de células diana intoxicadas y otras respuestas inmunes desencadenadas por la presentación de MHC Clase I de epítipos de células T suministrados por moléculas que reconocen células

[0911] En este ejemplo, se usan ensayos estándar conocidos en la técnica para investigar las consecuencias funcionales de la presentación de epítipos de células T en el MHC de clase I de las células diana suministrados por moléculas que reconocen células de ejemplo. Las consecuencias funcionales a investigar incluyen la activación de

CTL (por ejemplo, inducción de cascada de señales), la destrucción de células diana mediada por CTL y la liberación de citocinas de CTL por parte de CTL.

[0912] Se utiliza un ensayo de citotoxicidad basado en CTL para evaluar las consecuencias de la presentación del epítipo. El ensayo involucra células diana y células T cultivadas en tejidos. Las células diana se intoxican con moléculas que reconocen células de ejemplo como se describe anteriormente en la Sección III. Prueba de suministro de péptido-epítipo y presentación en la superficie de la célula diana, etc. De manera resumida, las células diana positivas se incuban durante veinte horas en condiciones estándar con diferentes moléculas administradas exógenamente, incluida una molécula de reconocimiento de las células. A continuación, se añaden CTL a las células diana tratadas y se incuban para permitir que los CTL reconozcan y se unan a cualquier célula diana que presente complejos péptido-epítipo/MHC clase I (pMHC Is). A continuación se investigan ciertas consecuencias funcionales de reconocimiento de pMHC I usando métodos estándar conocidos por el experto, incluyendo la unión de CTL a células diana, la destrucción de células diana que presentan epítipos mediante citólisis mediada por CTL y la liberación de citocinas, tales como IFN- γ o interleucinas mediante ELISA o ELISPOT.

[0913] Se realizaron ensayos conocidos por el experto para evaluar las consecuencias funcionales del acoplamiento intercelular de las células T en respuesta a la presentación de epítipos en la superficie celular por células cancerosas diana que presentan epítipos suministrados por moléculas que reconocen células de ejemplo. Los resultados de un ensayo de acoplamiento de células inmunes intercelulares in vitro muestran que el suministro mediado por el polipéptido efector de la toxina Shiga de un péptido-epítipo fusionado para reconocer células cancerosas positivas y la posterior presentación del epítipo en la superficie celular por parte de las células cancerosas diana puede resultar en una interacción intercelular de células inmunitarias con consecuencias funcionales, específicamente la secreción de IFN- γ por PBMC.

[0914] Se realiza un ensayo de rutina conocido por el experto para evaluar la activación de las células T intercelulares después de reconocimiento de la presentación del epítipo en la superficie celular por células cancerosas diana que muestran un epítipo suministrado por una molécula de reconocimiento de células derivada de la toxina Shiga. Este ensayo de acoplamiento de células T in vitro muestra que el suministro mediado por el polipéptido efector de la toxina Shiga de un péptido-epítipo fusionado para reconocer células cancerosas positivas y la posterior presentación del epítipo en la superficie celular por parte de las células cancerosas diana puede resultar en la acoplamiento intercelular de células T y la señalización celular intracelular característica de la activación de las células T.

[0915] Además, la activación de CTL por células diana que muestran complejos de péptido-epítipo/MHC de clase I (pMHC Is) se cuantifica usando ensayos de respuesta de CTL disponibles comercialmente, por ejemplo, ensayos de radiactivos CytoTox96[®] (Promega, Madison, WI, EE. UU.), ensayos de ELISpot Granzyme B (Mabtech, Inc., Cincinnati, OH, EE. UU.), ensayos de actividad de caspasa y ensayos de citometría de flujo de translocación LAMP-1. Para monitorear específicamente la destrucción de células diana mediada por CTL, se usa éster succinimidílico de carboxifluoresceína (CFSE) para reconocer células para investigación in vitro e in vivo, tal como se describe en la técnica (ver, por ejemplo, Durward M et al., J Vis Exp 45 pii 2250 (2010)).

[0916] En resumen, estos resultados muestran que las funciones efectoras de la toxina Shiga, particularmente el enrutamiento subcelular, pueden conservarse en niveles elevados a pesar de la presencia de un péptido-epítipo fusionado en el extremo carboxilo y la presencia de numerosas mutaciones en el componente derivado de la toxina Shiga que proporciona desimmunización y resistencia a la escisión por proteasas. Además, varias moléculas que reconocen células exhiben un nivel de suministro de carga de epítipo suficiente para producir un nivel de presentación de epítipo-MHC clase I para estimular el acoplamiento intercelular de las células T con las células presentadoras de carga de epítipo.

Ejemplo 2. Moléculas que reconocen células que comprenden polipéptidos derivados de la subunidad A de la toxina Shiga y péptidos-epítipos de células T fusionados

Creación de proteínas de fusión que reconocen células que comprenden regiones de polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga y regiones de péptido-epítipo de células T fusionadas

[0917] Las proteínas de fusión que reconocen células de este ejemplo comprendían un polipéptido de la región de unión de reconocimiento de células, un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga, un enlazador proteico y un epítipo de células T CD8+ humanas descrito en los documentos WO 2015/113005, WO 2016. /196344 y/o PCT/US2016/043902.

[0918] Utilizando técnicas conocidas en la técnica, se crearon proteínas de fusión que reconocen células fusionando genéticamente un péptido-epítipo de células T CD8+ humanas al extremo amino (N terminal) o al extremo carboxilo (C terminal) de un componente polipeptídico de una proteína parental de reconocimiento de células que comprende 1) un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga y 2) un polipéptido de la región de unión de reconocimiento de células separado por un enlazador proteico. Los epítipos de células T CD8+ fusionados se eligieron entre varios epítipos-péptidos de proteínas de células T que se originan en virus que comúnmente infectan a los humanos. Ciertas proteínas de fusión que reconocen células de este ejemplo se construyeron de modo que cada una

comprendiera un polipéptido único y continuo que comprendía un polipéptido de región de unión de reconocimiento de células, un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga y un epítipo de células T CD8+ heterólogo fusionado.

5 [0919] Las moléculas que reconocen células de ejemplo que se produjeron y probaron en este ejemplo fueron SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 (SEQ ID NO: 256), "SLT-1A-DI-4:: scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253), y "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254). Otras moléculas que reconocen células que se produjeron y probaron en este ejemplo incluyeron: C2::SL T -1A::scFv2 (SEQ ID NO: 267), "C2::SLT-1A::scFv2 inactiva" (SEQ ID NO: 268), SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 278), SLT-1A::scFv2::C2 (SEQ ID NO: 269), "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 270), F2::SLT-1A::scFv2 (SEQ ID NO: 271), scFv3::F2::SLT-1A (SEQ ID NO: 272), scFv4::F2::SLT-1A (SEQ ID NO: 273), SLT-1A::scFv5::C2 (SEQ ID NO: 274), SLT-1A::scFv6::F2 (SEQ ID NO: 275), "SLT-1A::scFv6::F2 inactiva" (SEQ ID NO: 276), SLT-1A::scFv7::C2 (SEQ ID NO: 277), y C1::SLT-1A::scFv1 (SEQ ID NO: 260), C1-2::SLT-1A::scFv1 (SEQ ID NO: 261), C3::SLT-1A::scFv1 (SEQ ID NO: 262), C24::SLT-1A::scFv1 (SEQ ID NO: 263), SLT-1A::scFv1::C1 (SEQ ID NO: 268), SLT-1A::scFv1::C24-2 (SEQ ID NO: 264), SLT-1A::scFv1::E2 (SEQ ID NO: 265), y SLT-1A::scFv1::F3 (SEQ ID NO: 266). Cada una de estas proteínas de fusión que reconocen células comprendía una región de unión de reconocimiento de células que comprendía un fragmento variable de cadena única (scFv), un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga derivado de la subunidad A de la toxina 1 similar a Shiga (SLT-1A), y un péptido-epítipo de células T CD8+ humanas fusionado a la región de unión o al polipéptido efector de la toxina Shiga.

20 [0920] Todas las regiones polipeptídicas efectoras de la toxina Shiga de las moléculas que reconocen células de este Ejemplo consistían en o derivaban de los aminoácidos 1-251 de SLT-1A (SEQ ID NO: 1), y algunas de ellas contenían sustituciones de dos o más residuos de aminoácidos con respecto a una subunidad A de la toxina Shiga de tipo salvaje, tal como, por ejemplo, la sustitución que inactiva el dominio catalítico E167D, C242S y/o sustituciones que dan como resultado resistencia a la escisión por furina R248A/R251A (véase, por ejemplo, los documentos WO 2015/191764; WO 2016/196344). El componente polipeptídico efector de la subunidad A de la toxina Shiga de las moléculas que reconocen células de ejemplo de este ejemplo incluye SLT-1A-DI-1 (SEQ ID NO: 30), "SLT-1A-DI-1 inactiva" (SEQ ID NO: 35), y "SLT-1A-DI-4 inactiva" (SEQ ID NO: 38), que puede ser catalíticamente activo o modificado para tener una actividad catalítica reducida (ver, por ejemplo, SEQ ID NO: 33). Tal como se usa en este ejemplo, la nomenclatura de molécula de reconocimiento de células "inactiva" se refiere a una molécula que comprende sólo aquel componente o componentes polipeptídicos efectoras de la subunidad A de la toxina Shiga que tienen la sustitución E167D. Esta sustitución de un único residuo de aminoácido puede atenuar la actividad catalítica de la subunidad A de la toxina Shiga, tal como, por ejemplo, en un factor de 10.000 veces.

35 [0921] Las regiones de unión de tipo inmunoglobulina scFv1, scFv2, scFv3, scFv4, scFv5, scFv6, scFv7 y scFv8 son cada uno de ellos fragmentos variables de cadena única que se unen con alta afinidad a una determinada biomolécula diana de la superficie celular acoplada físicamente a la superficie de ciertas células cancerosas humanas. Tanto scFv1 como scFv2 se unen con alta afinidad y especificidad a la misma biomolécula diana extracelular. Tanto scFv3 como scFv5 se unen con alta afinidad y especificidad a la misma biomolécula diana extracelular. Los tres scFv6, scFv7 y scFv8 se unen con alta afinidad y especificidad a la misma biomolécula diana extracelular. Ninguno de los scFv1, scFv3, scFv4 y scFv6 se dirigen a la misma biomolécula diana extracelular.

45 [0922] Todas las moléculas que reconocen células analizadas en los experimentos de este ejemplo, incluidas las moléculas que reconocen células de referencia, se produjeron en un sistema bacteriano y se purificaron mediante cromatografía en columna usando técnicas conocidas por el experto.

Prueba de los componentes de polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga de moléculas que reconocen células para la conservación de las funciones de la toxina Shiga después de la fusión de regiones de unión y péptidos-epítopos de células T

50 [0923] Se ensayaron proteínas que reconocen células para determinar la conservación de funciones efectoras de la subunidad A de la toxina Shiga después de la fusión de péptidos-epítopos de células T CD8+ heterólogos. Las funciones efectoras de la subunidad A de la toxina Shiga analizadas fueron: inactivación catalítica de ribosomas eucariotas, citotoxicidad y, por inferencia, enrutación subcelular autodirigida al citosol. Al menos siete proteínas que reconocen células exhibieron actividad catalítica comparable a un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje no fusionado a ningún péptido-epítipo de células T heterólogo o resto polipeptídico adicional.

1. Prueba de la capacidad de inhibición de ribosomas de moléculas que reconocen células

60 [0924] Las actividades catalíticas de las regiones polipeptídicas efectoras de la toxina Shiga derivadas de la subunidad A de la toxina Shiga de moléculas que reconocen células se probaron usando un ensayo de inhibición de ribosomas.

65 [0925] Las capacidades de inactivación de ribosomas de las proteínas que reconocen células de este ejemplo se determinaron usando un ensayo de traducción de proteínas *in vitro* sin células usando el kit de transcripción/traducción acoplado rápido TNT[®] (L1170 Promega Madison, WI, EE. UU.). El kit incluye Luciferase T7 Control DNA (L4821 Promega Madison, WI, EE. UU.) y TNT[®] Quick Master Mix. La reacción de actividad ribosomal se preparó según las

instrucciones del fabricante. Se preparó una serie de diluciones de 10 veces de la proteína de reconocimiento de células derivada de la toxina Shiga que se va a analizar en un tampón apropiado y se crearon una serie de componentes idénticos de la mezcla de reacción de TNT para cada dilución. Cada muestra de la serie de diluciones se combinó con cada una de las mezclas de reacción de TNT junto con el ADN de control de Luciferasa T7. Las muestras de prueba se incubaron durante 1,5 horas a 30 grados Celsius (°C). Después de la incubación, se añadió reactivo de ensayo de luciferasa (E1483 Promega, Madison, WI, EE. UU.) a todas las muestras de prueba y se midió la cantidad de traducción de la proteína luciferasa mediante luminiscencia de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

[0926] El nivel de inhibición de la traducción se determinó mediante análisis de regresión no lineal de concentraciones logarítmicas transformadas de proteína total frente a unidades de luminiscencia relativas. Usando el software estadístico (GraphPad Prism, San Diego, CA, EE. UU.), se calculó el valor de la concentración inhibidora semimáxima (IC₅₀) para cada muestra usando la función del software Prism de log (inhibidor) versus respuesta (tres parámetros) [$Y = \text{Abajo} + ((\text{Arriba} - \text{Abajo}) / (1 + 10^{-(X - \text{Log IC}_{50})}))$] bajo el título dosis-respuesta-inhibición. Se calcularon los valores de IC₅₀ para cada proteína de reconocimiento de células derivada de la toxina Shiga de uno o más experimentos y se muestran en la Tabla 3 en picomolar (pM). En el presente documento se considera que cualquier molécula de reconocimiento de células que exhiba una IC₅₀ dentro de 10 veces de una molécula de control positivo que comprende un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje (por ejemplo, SLT-1A-WT (SEQ ID NO: 279)) exhibe actividad de inhibición de ribosoma comparable a la del tipo salvaje.

Tabla 3. Inhibición ribosomal por proteínas que reconocen células derivadas de la toxina Shiga fusionadas a epítopos-peptidos heterólogos

Proteína	Epitopo fusionado	Localización de la fusión	Inhibición ribosomal IC ₅₀ (pM)
Experimento 1			
C1::SLT-1A::scFv1	C1	Fusión N-terminal	3,2
C1-2::SLT-1A::scFv1	C1-2	Fusión N-terminal	1,2
C3::SLT-1A::scFv1	C3	Fusión N-terminal	5,6
C24::SLT-1A::scFv1	C24	Fusión N-terminal	1,4
SLT-1A::scFv1	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		1,2
Experimento 2			
C2::SLT-1A::scFv2	C2	Fusión N-terminal	12,6
SLT-1A::scFv2::C2	C2	Fusión N-terminal	13,1
SLT-1A::scFv2	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		8,3
Experimento 3			
F2::SLT-1A::scFv2	F2	Fusión N-terminal	2,2
SLT-1A::scFv2	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		8,2
Experimento 4			
scFv3::F2::SLT-1A	F2	Entre la región de unión y efector de toxina Shiga (N-terminal del efector de toxina Shiga)	6,0
scFv4::F2::SLT-1A	F2	Entre la región de unión y efector de toxina Shiga (N-terminal del efector de toxina Shiga)	5,0
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		9,8
Experimento 5			
SLT-1A::scFv5::C2	C2	Fusión C-terminal	1,0
SLT-1A::scFv5	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		2,1
Experimento 6			
SLT-1A::scFv6::F2	F2	Fusión C-terminal	5,6
SLT-1A::scFv6	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		3,2
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		6,1

[0927] Tal como se muestra en la Tabla 3, las proteínas que reconocen células exhibieron una potente inhibición de ribosomas comparable a los controles positivos: 1) un polipéptido "SLT-1A-WT solo" (SEQ ID NO: 279) que comprende solo una secuencia de polipéptido de subunidad A de toxina Shiga de tipo salvaje y 2) una proteína de reconocimiento

de células que comprende un polipéptido efector de toxina Shiga derivado de SLT-1A fusionado a una región de unión a scFv, pero que carece de cualquier péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo fusionado, por ejemplo, SLT-1A::scFv1 (SEQ ID NO: 280), SLT-1A::scFv2 (SEQ ID NO: 281), SLT-1A::scFv5 (SEQ ID NO: 283), o SLT-1A::scFv6 (SEQ ID NO: 284).

5

2. Prueba de las actividades citotóxicas de moléculas que reconocen células

[0928] Las actividades citotóxicas de las moléculas que reconocen células se midieron usando un ensayo de toxicidad basado en células de cultivo de tejidos. Para determinadas moléculas que reconocen células se determinó la concentración de molécula de reconocimiento de células administrada exógenamente que destruye la mitad de las células en una población celular homogénea (concentración citotóxica semimáxima). Las citotoxicidades de las moléculas que reconocen células se probaron utilizando ensayos de destrucción celular que involucraban células positivas o negativas para biomolécula diana con respecto a la biomolécula diana de la región de unión de cada molécula de reconocimiento de células.

15

[0929] Los ensayos de destrucción celular se realizaron de la siguiente manera. Se sembraron células de líneas celulares tumorales humanas (normalmente a 2×10^3 células por pocillo para células adherentes, sembradas en placas el día antes de la adición de proteínas, o $7,5 \times 10^3$ células por pocillo para células en suspensión, sembradas en placas el mismo día de la adición de proteínas) en 20 μ L de medio de cultivo celular en placas de 384 pocillos. Se preparó una serie de diluciones de 10 veces de las proteínas a analizar en un tampón apropiado y se añadieron a las células 5 μ l de las diluciones o sólo el tampón como control negativo. Se utilizaron pocillos de control que contenían únicamente medio de cultivo celular para la corrección de la línea base. Las muestras de células se incubaron con las proteínas o simplemente con tampón durante 3 o 5 días a 37 °C y en una atmósfera de 5 % de dióxido de carbono (CO₂). La supervivencia celular total o el porcentaje de viabilidad se determinaron mediante una lectura luminiscente utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (G7573 Promega Madison, WI, EE. UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, medida en unidades de luz relativas (ULR).

20

25

[0930] El porcentaje de viabilidad de los pocillos experimentales se calculó usando la siguiente ecuación: (ULR de prueba - ULR de medio promedio) / (ULR de células promedio - ULR de medio promedio) * 100. La concentración logarítmica de proteína versus el porcentaje de viabilidad se representó en Prism (GraphPad Prism, San Diego, CA, EE. UU.) y se utilizaron análisis log (inhibidor) versus respuesta (3 parámetros) para determinar el valor de concentración citotóxica semimáxima (CD₅₀) para las proteínas analizadas. Cuando fue posible, se calcularon los valores de CD₅₀ para cada proteína de reconocimiento de células analizada.

30

[0931] La especificidad de la actividad citotóxica de una determinada molécula de reconocimiento de células se determinó comparando las actividades de destrucción celular hacia células que expresan una cantidad significativa de una biomolécula diana de la región de unión de la molécula de reconocimiento de células (células diana positivas) con actividades de destrucción celular hacia células que no exhiben ninguna cantidad significativa de ninguna biomolécula diana de la región de unión de la molécula de reconocimiento de células físicamente acoplada a cualquier superficie celular (células diana negativas). Esto se logró determinando las concentraciones citotóxicas semimáximas de una determinada molécula de reconocimiento de células hacia poblaciones celulares que eran positivas para la expresión en la superficie celular de la biomolécula diana de la molécula de reconocimiento de células que se estaba analizando y, a continuación, usando el mismo intervalo de concentración de molécula de reconocimiento de células para intentar determinar las concentraciones citotóxicas semimáximas hacia poblaciones celulares que fueron negativas para la expresión en la superficie celular de la biomolécula diana de la molécula de reconocimiento de células. En algunos experimentos, las células diana negativas tratadas con la cantidad máxima de la molécula que contiene toxina Shiga no mostraron ningún cambio en la viabilidad en comparación con un control negativo con "tampón solo".

35

40

45

[0932] Los niveles de actividad citotóxica de diversas moléculas probadas usando el ensayo de destrucción celular descrito anteriormente se indican en la Tabla 4. Tal como se indica en la Tabla 4, las proteínas que reconocen células que se probaron en este ensayo exhibieron una citotoxicidad potente. Si bien la fusión de un péptido-epítipo heterólogo de células T CD8+ con una proteína de reconocimiento de células derivada de la toxina Shiga no puede producir ningún cambio en la citotoxicidad, algunas proteínas que reconocen células mostraron una citotoxicidad reducida en comparación con la proteína parental de la que se obtuvieron, que no comprendía ningún péptido-epítipo heterólogo fusionado (Tabla 4). Tal como se indica en los Ejemplos, una molécula que exhibe un valor de CD₅₀ dentro de 10 veces de un valor de CD₅₀ medido para una molécula de referencia se considera que exhibe una actividad citotóxica comparable a esa molécula de referencia. En particular, cualquier molécula de reconocimiento de células que exhiba un valor de CD₅₀ para una población de células diana positivas dentro de 10 veces del valor de CD₅₀ de una molécula de reconocimiento de células de referencia que comprende la misma región de unión y un polipéptido efector de toxina Shiga de tipo salvaje (por ejemplo, SLT-1A-WT (SEQ ID NO: 279)), pero que no comprende ningún péptido-epítipo de células T heterólogo fusionado, hacia el mismo tipo de célula se denomina en el presente documento "comparable al tipo salvaje". Las moléculas que reconocen células que exhibieron un valor de CD₅₀ para una población de células diana positivas dentro de 100 a 10 veces de una molécula de referencia que comprende la misma región de unión y el mismo polipéptido efector de la toxina Shiga, pero que no comprende ningún péptido-epítipo de células T heterólogo fusionado, se hace referencia en el presente documento como activo, pero "atenuado".

50

55

60

65

Tabla 4. Actividades citotóxicas de proteínas que reconocen células derivadas de la toxina Shiga que comprenden péptidos-epítomos heterólogos fusionados

Proteína	Epítomo fusionado	Localización de la fusión	Tipo de célula en ensayo	Citotoxicidad CD ₅₀ (nM)
Experimento 1				
C1::SLT-1A::scFv1	C1	N-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,025
C1-2::SLT-1A::scFv1	C1-2	N-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,067
C3::SLT-1A::scFv1	C3	N-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,059
C24::SLT-1A::scFv1	C24	N-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,240
SLT-1::scFv1	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular A (diana positiva)	0,010
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular A (diana positiva)	> 100 nM
Experimento 2				
SLT-1A::scFv1::C1	C1	C-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,009
SLT-1A::scFv1::C24-2	C24-2	C-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,263
SLT-1A::scFv1::F3	F3	C-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,041
SLT-1A::scFv1::E2	E2	C-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,213
SLT-1A::scFv1	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular A (diana positiva)	0,004
Experimento 3				
SLT-1A::scFv1::C2	C2	C-terminal	Línea celular B (diana positiva)	0,041
SLT-1A::scFv1	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular B (diana positiva)	0,097
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular B (diana positiva)	> 100 nM
SLT-1A::scFv1::C2	C2	C-terminal	Línea celular C (diana positiva)	> 100 nM
SLT-1A::scFv1	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular C (diana positiva)	> 100 nM
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular C (diana positiva)	> 100 nM
Experimento 4				
F2::SLT-1A::scFv2	F2	N-terminal	Línea celular A (diana positiva)	0,016
SLT-1A::scFv2	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular A (diana positiva)	0,016
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular A (diana positiva)	33,000
F2::SLT-1A::scFv2	F2	N-terminal	Línea celular B (diana positiva)	0,0140
SLT-1A::scFv2	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular B (diana positiva)	0,0250
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular B (diana positiva)	310,000
Experimento 5				
C2::SLT-1A::scFv2	C2	N-terminal	Línea celular B (diana positiva)	0,35
SLT-1A::scFv2::C2	C2	C-terminal	Línea celular B (diana positiva)	0,31
C2::SLT-1A::scFv2 inactiva	C2	N-terminal	Línea celular B (diana positiva)	> 100 mM
SLT-1A::scFv2::C2	Ninguno; molécula de control que no tiene epítomo fusionado		Línea celular B (diana positiva)	0,11

SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		Línea celular B (diana positiva)	> 100 mM
Experimento 6				
scFv3::F2::SLT-1A	F2	Entre la región de unión y el efector de la toxina Shiga (N-terminal del efector de la toxina Shiga)	Línea celular D (diana positiva)	1,42
scFv3::SLT-1A	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		Línea celular D (diana positiva)	1,35
SLT-1A-WT solo	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		Línea celular D (diana positiva)	> 100 mM
Experimento 7				
SLT-1A::scFv5::C2	C2	C-terminal	Línea celular E (diana positiva)	0,33
SLT-1A::scFv5	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		Línea celular E (diana positiva)	0,25
SLT-1A-WT	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		Línea celular E (diana positiva)	> 100 mM
Experimento 8				
SLT-1A::scFv6::F2	F2	C-terminal	Línea celular F (diana positiva)	0,061
SLT-1A::scFv6	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		Línea celular F (diana positiva)	0,142
SLT-1A::scFv7::C2	C2	C-terminal	Línea celular F (diana positiva)	0,011
SLT-1A::scFv7	Ninguno; molécula de control que no tiene epítipo fusionado		Línea celular F (diana positiva)	0,018

[0933] Todas las proteínas que reconocen células analizadas destruyeron potentemente las células diana positivas (Tabla 4) pero no destruyeron porcentajes comparables de células diana negativas en las mismas dosis (ver, por ejemplo, Figuras 6 y 7). Las Figuras 6 y 7 muestran gráficamente que la citotoxicidad específica de la proteína de reconocimiento de células SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 278) solo fue específica para las células que expresan la diana (Figura 6) pero no las células negativas para diana en el intervalo de concentraciones probado (Figura 7). Los valores de CD₅₀ de las proteínas que reconocen células hacia células diana negativas no se pudieron calcular a partir del rango de concentración de la proteína de reconocimiento de células analizada porque no se pudo generar una curva precisa cuando no hubo una disminución considerable en la viabilidad celular en las concentraciones más altas analizadas (ver, por ejemplo, la Figura 7).

Prueba de suministro de péptido-epítipo y la presentación en la superficie de la célula diana de los péptido-epítopos suministrados

[0934] El suministro exitoso de un epítipo de células T se puede determinar mediante la detección de complejos de molécula de MHC de clase I/epítipo específicos en la superficie celular (pMHC Is). Para probar si una proteína de reconocimiento de células puede suministrar un epítipo de células T fusionado a la vía de presentación del MHC de clase I de las células diana, se empleó un ensayo que detecta moléculas de MHC de clase I humanas complejadas con epítopos específicos. Se utilizó un método de citometría de flujo para demostrar el suministro de un epítipo de células T (fusionado a una proteína de reconocimiento de células derivada de la subunidad A de la toxina Shiga) y la presentación extracelular del péptido-epítipo de células T en complejo con moléculas de MHC Clase I en la superficies de las células diana. Este método de citometría de flujo utiliza reactivos multímeros del receptor de células T (TCR) humanos solubles (Soluble T-Cell Antigen Receptor STAR™ Multimer, Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.), cada uno con unión de alta afinidad a un complejo diferente de epítipo-HLA humano.

[0935] Cada reactivo multímero de TCR STAR™ se deriva de un receptor de células T específico y permite la detección de un complejo péptido-MHC específico basándose en la capacidad del TCR elegido para reconocer un péptido específico presentado en el contexto de una molécula particular de MHC clase I. Estos multímeros de TCR están compuestos de TCR humanos recombinantes que han sido biotinilados y multimerizados con estreptavidina. Los multímeros de TCR están marcados con ficoeritrina (PE). Estos reactivos de multímero de TCR permiten la detección de complejos específicos de péptido-MHC Clase I presentados en las superficies de células humanas porque cada tipo de multímero de TCR soluble reconoce y se une de manera estable a un complejo de péptido-MHC específico en condiciones variadas (Zhu X et al., J. Immunol 176: 3223-32 (2006)). Estos reactivos multímeros de TCR permiten la identificación y cuantificación mediante citometría de flujo de complejos péptido-MHC de clase I presentes en las superficies de las células.

[0936] En este ejemplo se usó el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ (Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.). La presentación de la ruta MHC de clase I del péptido C2 de CMV humano (NLVPMVATV (SEQ ID NO: 21)) por células humanas que expresan HLA-A2 se puede detectar con el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ que exhibe un reconocimiento de alta afinidad del péptido-epítipo CMV-pp65 (residuos 495-503, NL VPMV ATV) formando un complejo con HLA-A2 humano y está marcado con PE.

[0937] Las células diana utilizadas en este ejemplo (líneas celulares diana positivas B, D, E, F, G, H, I, J y K) fueron células cancerosas humanas inmortalizadas disponibles en la ATCC (Manassas VA, EE. UU.) o la DSMZ (The Leibniz Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulture) (Braunschweig, DE)). Utilizando métodos de citometría de flujo estándar conocidos en la técnica, se confirmó que las células diana expresaban en sus superficies celulares tanto la molécula de MHC-Clase I HLA-A2 como las biomoléculas diana extracelulares de las proteínas que reconocen células utilizadas en este ejemplo. En algunos experimentos, las células cancerosas humanas se trataron previamente con interferón gamma humano (IFN- γ) para mejorar la expresión del HLA-A2 humano.

[0938] Se trataron conjuntos de células diana mediante administración exógena de moléculas que reconocen células que comprenden un epítipo de células T CD8+, viral, fusionado en carboxi terminal: SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 278), "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 270), SLT-1A::scFv5::C2 (SEQ ID NO: 273) y SLT-1A::scFv7::C2 (SEQ ID NO: :277); o fueron tratados mediante administración exógena de una proteína de fusión de reconocimiento de células de control negativo que no comprendía ningún péptido-epítipo viral heterólogo fusionado (SLT-1A::scFv1 (SEQ ID NO:280), SLT-1A::scFv2 (SEQ ID NO: 282), "SLT-1A::scFv2 inactiva" (SEQ ID NO: 281), SLT-1A::scFv5 (SEQ ID NO: 283), o SLT-1A::scFv7 (SEQ ID NO: 286). Las moléculas que reconocen las células y las moléculas de referencia utilizadas en estos experimentos incluyen tanto moléculas citotóxicas catalíticamente activas que reconocen las células como moléculas que reconocen las células "inactivas", lo que significa que todos sus componentes polipeptídicos efectores de la toxina Shiga comprendían la mutación E167D, que reduce severamente la actividad catalítica de Subunidades A de la toxina Shiga y toxinas Shiga. Estos tratamientos se realizaron en concentraciones de moléculas que reconocen células similares a las utilizadas por otros, teniendo en cuenta las sensibilidades específicas del tipo celular a las toxinas Shiga (ver, por ejemplo, el documento WO 2015/113005). A continuación, las células tratadas se incubaron durante 4 a 16 horas en condiciones estándar, incluso a 37 °C y una atmósfera con 5 % de dióxido de carbono, para permitir la intoxicación mediada por un polipéptido efector de la toxina Shiga. A continuación, las células se lavaron y se incubaron con el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ para "teñir" las células presentadoras del complejo péptido C2-HLA-A2.

[0939] Como controles, se trataron conjuntos de células diana en tres condiciones: 1) sin ningún tratamiento ("sin tratar"), lo que significa que solo se agregó tampón a las células y no se agregó ninguna molécula exógena, 2) con péptido C2 de CMV administrado exógenamente (CMV-pp65, aa 495-503: secuencia NLVPMVATV (SEQ ID NO: 21), sintetizado por BioSynthesis, Lewisville, TX, EE. UU.), y/o 3) con péptido C2 de CMV administrado exógenamente ((SEQ ID NO: 21), como antes) combinado con un potenciador de carga de péptidos ("PLE", Altor Bioscience Corp., Miramar, FL, EE. UU.). El péptido C2 (SEQ ID NO: 21) combinado con el tratamiento con PLE permitió la carga de péptido exógeno y sirvió como control positivo. Las células que presentan el haplotipo MHC de clase I apropiado pueden verse obligadas a cargar el péptido aplicado exógenamente apropiado desde un espacio extracelular (es decir, en ausencia de internalización celular del péptido aplicado) o en presencia de PLE, que es una mezcla de microglobulina B2 y otros componentes.

[0940] Después de los tratamientos, todos los conjuntos de células se lavaron y se incubaron con el reactivo multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ durante una hora en hielo. Las células se lavaron y la fluorescencia de las muestras se midió mediante citometría de flujo usando un citómetro de flujo Accuri™ C6 (BD Biosciences, San Jose, CA, EE. UU.) para detectar la presencia y cuantificar cualquier multímero TCR CMV-pp65-PE STAR™ unido a células de la población (a veces denominado en el presente documento "tinción") en unidades de luz relativas (ULR).

[0941] La Tabla 5 y las Figuras 8-12 muestran resultados de experimentos que utilizan el ensayo TCR STAR™ que detecta complejos de superficie celular de epítipo C2/molécula HLA-A2 MHC de clase I. Para cada experimento, la muestra de control no tratada se usó para identificar las poblaciones de células positivas y negativas empleando una puerta que da como resultado menos del 1 % de las células del control no tratado en la puerta "positiva" (que representa la señal de fondo). A continuación se aplicó la misma puerta a las otras muestras para caracterizar la población positiva para cada muestra. Las células positivas en este ensayo fueron células que se unieron mediante el reactivo TCR-CMV-pp65-PE STAR™ y se contaron en la puerta positiva descrita anteriormente. En la Figura 8 y las Figuras 10-12, los histogramas de citometría de flujo se proporcionan con los recuentos (número de células) en el eje Y y las unidades fluorescentes relativas (UFR) que representan la señal de tinción con PE del multímero TCR CMV-pp65 STAR™ en el eje X (escala logarítmica). La línea negra muestra los resultados de la muestra de células no tratadas únicamente, y la línea gris muestra los resultados de los controles negativos (tratamiento con solo una proteína parental de reconocimiento de células que carece de cualquier péptido-epítipo viral), o el tratamiento con una proteína específica de reconocimiento de las células. En las Figuras 8, 11 y 12, los paneles superiores muestran los resultados de las muestras de células no tratadas usando líneas negras y los resultados de las muestras tratadas con la molécula de reconocimiento de las células usando líneas grises. En las Figuras 8, 11 y 12, los paneles inferiores muestran los resultados de las muestras de células no tratadas usando líneas negras y los resultados de las proteínas de control, que no comprendían ningún péptido-epítipo fusionado, usando líneas grises. En la Figura 10, el panel

superior muestra los resultados de una incubación de 4 horas y el panel inferior muestra los resultados de una incubación de 16 horas. En la Tabla 5, se proporciona el porcentaje de células en un conjunto de tratamiento que se tiñeron positivamente para el complejo de péptido-péptido-epítipo C2-molécula de MHC de clase I HLA-A2. La Tabla 5 también muestra la intensidad fluorescente media indexada correspondiente ("iMFI", la fluorescencia de la población positiva multiplicada por el porcentaje positivo) en UFR para cada conjunto de tratamiento.

Tabla 5. Detección de complejos de epítipo C2/MHC de clase I en la superficie celular después del suministro de péptidos-epítipo C2 mediante proteínas que reconocen células: complejos de péptido-epítipo C2/MHC de clase I detectados en las superficies de células diana intoxicadas.

Proteína	Tipo de célula positiva diana	Duración de la incubación (horas)	Porcentaje de células presentadoras del complejo de pMHC I	iMFI (UFR)
Experimento 1				
SLT-1A::scFv 1::C2	Línea celular B	4 horas	33,0 %	440
SLT-1A::scFv2	Línea celular B	4 horas	5,0 %	80
Experimento 2				
SLT-1A::scFv1::C2	Línea celular B	16 horas	95,4 %	28.800
SLT-1A::scFv1	Línea celular B	16 horas	5,0 %	154
Experimento 3				
SLT-1A::scFv2::C2 inactiva	Línea celular G	24 horas	43,3 %	4.034
SLT-1A::scFv2 inactiva	Línea celular G	24 horas	0,2 %	17
Péptido C2	Línea celular G	24 horas	57,8 %	5.114
Péptido C2 + PLE	Línea celular G	24 horas	0,5 %	79
Experimento 4				
SLT-1A::scFv2::C2 inactiva	Línea celular B	16 horas	80,5 %	3.170
SLT-1A::scFv2 inactiva	Línea celular B	16 horas	4,1 %	63
SLT-1A::scFv2::C2 inactiva	Línea celular H	16 horas	67,9 %	2.550
SLT-1A::scFv2 inactiva	Línea celular H	16 horas	3,5 %	47
Experimento 5				
SLT-1A::scFv5::C2	Línea celular E	24 horas	41,9 %	17.846
SLT-1A::scFv5	Línea celular E	24 horas	0,5 %	64
Péptido C2	Línea celular E	24 horas	2,4 %	357
Péptido C2 + PLE	Línea celular E	24 horas	93,2 %	42.429
Experimento 6				
SLT-1A::scFv7::C2	Línea celular F	16 horas	27,6 %	6.132
SLT-1A::scFv7	Línea celular F	16 horas	1,7 %	365

[0942] Tal como se observa en la Tabla 5 y las Figuras 8-12, las muestras de células tratadas con proteínas que reconocen células de ejemplo mostraron expresión del complejo de epítipo C2/molécula de MHC de clase I HLA-A2 en las superficies de la mayoría de las células tratadas dependiendo sobre la duración de la incubación. Las células tratadas con las proteínas exógenas que reconocen células SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 278) o "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 270), SLT-1A::scFv5::C2 (SEQ ID NO: 274) y SLT-1A::scFv7::C2 (SEQ ID NO: 277) mostraron una señal positiva para los complejos de epítipo C2/HLA-A2 en superficie celular en el 33-95 % de las células de las muestras analizadas (Tabla 5). Por el contrario, las células que fueron tratadas con proteínas que reconocen células parentales, que no contenían ningún péptido-epítipo de células T fusionado como control negativo, exhibieron tinción celular positiva del cinco por ciento o menos de las células en la población de células tratadas (Tabla 5; Figuras 8-12).

[0943] Mientras que la mayoría de las células tratadas con proteínas que reconocen células de este ejemplo mostraron en una superficie celular el complejo de epítipo C2/HLA-A2, el cinco por ciento o menos de las células en poblaciones de células "no tratadas" mostraron tinción TCR STAR™ para complejos de epítipo C2/HLA-A2 (Tabla 5; Figura 8; Figura 10). El tratamiento de control positivo mostró una tinción robusta del 99 % de las células de la población debido exclusivamente a la carga de sólo péptido-epítipo C2 exógeno (SEQ ID NO: 21) en presencia del potenciador de carga de péptido (Figura 9). Debido a la eficiencia y la cinética del procesamiento, que no se midieron, es posible que el porcentaje de complejos de epítipo C2/HLA-A2 presentados detectados en un único punto de tiempo en una muestra de tratamiento con "proteína de reconocimiento de células" no refleje con precisión la cantidad máxima de

presentación de epítipo C2/HLA-A2 posible después del suministro por una determinada proteína de reconocimiento de células.

[0944] La detección del epítipo de células T C2 (SEQ ID NO: 21) complejado con moléculas de MHC de Clase I humanas (péptido-epítipo C2/HLA-A2) en la superficie celular de células diana tratadas con moléculas que reconocen células demostró que las proteínas que reconocen células (SLT-1A::scFv1::C2 (SEQ ID NO: 278), "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 270), SLT-1A::scFv5::C2 (SEQ ID NO: 274), y SLT-1A::scFv7::C2 (SEQ ID NO: 277)) que comprenden este péptido-epítipo fusionado (C2 (SEQ ID NO: 21)) fueron capaces de entrar en las células diana, realizar suficiente enrutamiento subcelular y suministrar suficiente epítipo C2 (SEQ ID NO: 21) a la vía del MHC de clase I para la presentación en superficie por la superficie de la célula diana.

Prueba de citólisis mediada por células T citotóxicas de células diana intoxicadas y otras respuestas inmunes desencadenadas por la presentación en MHC Clase I de epítipos de células T suministrados por moléculas que reconocen células

[0945] En este ejemplo, se usan ensayos estándar conocidos en la técnica para investigar las consecuencias funcionales de la presentación de epítipos de células T en el MHC de clase I de las células diana suministrados por moléculas que reconocen células de ejemplo. Las consecuencias funcionales a investigar incluyen la activación de CTL (por ejemplo, inducción de cascada de señales), la destrucción de células diana mediada por CTL y la liberación de citocinas de CTL por parte de CTLs.

[0946] Se utiliza un ensayo de citotoxicidad basado en CTL para evaluar las consecuencias de la presentación del epítipo. El ensayo involucra células diana y células T cultivadas en tejidos. Las células diana se intoxican con moléculas que reconocen células de ejemplo como se describe anteriormente en este Ejemplo en la subsección "Prueba de suministro de péptido-epítipo y presentación en la superficie de la célula diana", etc. De manera resumida, las células diana positivas se incuban durante veinte horas en condiciones estándar con diferentes moléculas administradas de manera exógena, incluyendo una molécula de reconocimiento de células. A continuación, se añaden CTLs a las células diana tratadas y se incuban para permitir que los CTL reconozcan y se unan a cualquier célula diana que presente complejos péptido-epítipo/MHC clase I (pMHC Is). A continuación, se investigan ciertas consecuencias funcionales de reconocimiento de pMHC I usando métodos estándar conocidos por el experto, incluyendo la unión de CTL a células diana, la destrucción de células diana que presentan epítipos mediante citólisis mediada por CTL y la liberación de citocinas, tales como IFN- γ o interleucinas mediante ELISA o ELISPOT.

[0947] Se realizaron ensayos para evaluar las consecuencias funcionales del acoplamiento intercelular de las células T en respuesta a la presentación de epítipos en la superficie celular por parte de células cancerosas diana que muestran epítipos suministrados por moléculas que reconocen células.

[0948] La Figura 13 y la Tabla 6 muestran los resultados de un ensayo ELISPOT de Interferón Gamma (Mabtech, Inc., Cincinnati, OH, EE. UU.) utilizado según las instrucciones del fabricante. Este ensayo ELISPOT se puede utilizar para cuantificar la secreción de IFN- γ , ya que cada mancha indica una célula secretora de IFN- γ . De manera resumida, se incubaron muestras de células de la línea celular G diana positiva durante 20 horas solo con tampón de solución salina tamponada con fosfato (PBS) ("tampón solo"), "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 270), o la molécula de referencia "SLT-1A::scFv2 inactiva" (SEQ ID NO: 282). Las muestras se lavaron con PBS y se agregaron a placas ELISPOT ya cargadas con PBMC humanas (serotipo HLA-A2) de Cellular Technology Limited (Shaker Heights, OH, EE. UU.). Las placas se incubaron durante 24 horas más y a continuación se detectaron manchas de acuerdo con las instrucciones del kit Mabtech para el ensayo ELISPOT para Interferón Gamma y se cuantificaron utilizando un lector de placas ELISPOT (Zellnet Consulting, Inc., Fort Lee, Nueva Jersey, EE. UU.).

Tabla 6. Secreción de interferón gamma por PBMC después de reconocer la presentación de epítipos por células diana incubadas con proteína "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva"

Proteína	Tipo de célula positiva diana	Número de manchas promedio	Área promedio por mancha
SLT-1A::scFv2::C2 inactiva	Línea celular G	490	2.636.291
SLT-1A::scFv2 inactiva	Línea celular G	280	1.511.726
Tampón solo	Línea celular G	334	2.144.217

[0949] Los resultados en la Tabla 6 y la Figura 13 muestran que la incubación de células de la línea celular G con la molécula de reconocimiento de células "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 270) dio como resultado una señal de actividad de luciferasa de PBMC mayor que la señal de fondo determinada usando la muestra de células tratadas sólo con tampón o la señal de luciferasa de las células de muestra tratadas con la molécula de referencia "SLT-1A::scFv2 inactiva" (SEQ ID NO: 282). Los resultados de este ensayo de acoplamiento intercelular de células inmunitarias in vitro mostraron que el suministro mediado por el polipéptido efector de la toxina Shiga de un péptido-epítipo fusionado para reconocer células cancerosas positivas y la posterior presentación del epítipo en la superficie

celular por parte de las células cancerosas diana pueden resultar en un acoplamiento intercelular de células inmunitarias con consecuencias funcionales, específicamente la secreción de IFN- γ por PBMC.

[0950] Cuando una célula T efectora reconoce un complejo epítipo-MHC-I específico, la célula T puede iniciar una cascada de señalización intracelular que impulsa la translocación de factor nuclear de factores transcripción de células T activadas (NFAT) desde el citosol al núcleo y puede dar como resultado la estimulación de la expresión de genes que contienen uno o más elementos de respuesta a NFAT (RE) (véase, por ejemplo, Macian F, Nat Rev Immunol 5: 472-84 (2005)). Se transfeció una línea de células T J76 diseñada para expresar un receptor de células T humanas que reconoce específicamente el complejo péptido F2/molécula HLA A2 MHC de clase I humana (Berdien B et al., Hum Vaccin Immunother 9: 1205-16 (2013)) con un vector de expresión de luciferasa (pGL4.30[luc2P/NFAT-RE/Hygro], CAT# E8481, Promega Corp., Madison, WI, EE. UU.) que está regulado por un NFAT-RE. Cuando la célula específica de J76 TCR transfectada con reportador de luciferasa reconoce una célula que presenta el complejo péptido-epítipo HLA-A2/F2 (SEQ ID NO: 25), entonces la expresión de luciferasa puede estimularse mediante factores de transcripción NFAT que se unen a NFAT-RE del vector de expresión. Los niveles de actividad de luciferasa en las células J76 transfectadas se pueden cuantificar mediante la adición de un sustrato de luciferasa estándar y a continuación leyendo los niveles de luminiscencia usando un fotodetector.

[0951] Se realizó un ensayo para evaluar la activación intercelular de las células T después de reconocimiento de la presentación del epítipo en la superficie celular por parte de células cancerosas diana que muestran un epítipo suministrado por una molécula de reconocimiento de las células. Brevemente, se incubaron muestras de células de la línea celular F con "SLT-1A::scFv6::F2 inactiva" (SEQ ID NO: 276), la molécula de referencia "SLT-1A::scFv6 inactiva" (SEQ ID NO: 285), o simplemente tampón solo durante 6 horas y a continuación se lavaron. A continuación, se mezclaron células T J76 transfectadas con indicador de luciferasa con cada muestra y las mezclas de células se incubaron durante 18 horas. A continuación, se midió la actividad de la luciferasa utilizando el reactivo del sistema de ensayo de luciferasa One-Glo™ (Promega Corp., Madison, WI, EE. UU.). La Figura 14 y la Tabla 7 muestran los resultados de este ensayo de acoplamiento intercelular de células T.

Tabla 7. Señal de luciferasa impulsada por el elemento de respuesta NFAT en células reporteras después de reconocimiento de la presentación del epítipo por células diana incubadas con proteína "SLTA-1A::scFv6::F2 inactiva"

Proteína	Tipo de célula positiva diana	Señal de luciferasa promedio (ULR)
SLT-1A::scFv6::F2 inactiva	Línea celular F	565
SLT-1A::scFv6 inactiva	Línea celular F	259
Tampón solo	Línea celular F	242

[0952] Los resultados en la Tabla 7 y la Figura 14 muestran que la incubación con la molécula de reconocimiento de células "SLT-1A::scFv6::F2 inactiva" (SEQ ID NO: 276) dio como resultado niveles de actividad de luciferasa mayores que la señal de actividad de luciferasa de referencia determinada usando células tratadas "sólo con tampón" o la actividad luciferasa de muestras de células tratadas con la molécula de control negativo "SLT-1A::scFv6 inactiva" (SEQ ID NO: 285). Este ensayo de acoplamiento de células T in vitro mostró que el suministro mediado por el polipéptido efector de la toxina Shiga de un péptido-epítipo fusionado para reconocer células cancerosas positivas y la posterior presentación del epítipo en la superficie celular por parte de las células cancerosas diana pueden resultar en el acoplamiento intercelular de células T y una lectura de señalización celular intracelular característica de la activación de células T.

[0953] Cuando una célula T efectora reconoce un complejo de epítipo-MHC-I específico, la célula T puede iniciar una cascada de señalización intracelular que promueve la secreción de citocinas efectoras (por ejemplo, IFN- γ) y/o da como resultado una destrucción intercelular mediada por células inmunitarias de la célula que presenta ese complejo específico de epítipo y MHC-I. Se realizó un ensayo para evaluar la secreción de células T de la citotoxicidad mediada por células T CD8+ e IFN- γ después de reconocimiento de la presentación del epítipo en la superficie celular por parte de células cancerosas diana que muestran un epítipo suministrado por una molécula de reconocimiento de las células. Este ensayo implica la incubación conjunta de células tumorales, que fueron pretratadas con una molécula de reconocimiento de células, con células mononucleares de sangre periférica (PBMC), incluidas células T capaces de reconocer un pMHC I específico, es decir, células T que expresan un receptor de células T que reconoce específicamente el complejo de péptido-molécula MHC de clase I en la superficie de otra célula presentadora.

[0954] El ensayo de incubación conjunta de células T intercelulares se realizó de la siguiente manera para medir la secreción de IFN- γ y la destrucción de células diana. Se incubaron células de la línea celular I, que es diana positiva para la molécula extracelular unida por scFv6, durante cuatro horas con 500 nM de "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactiva" (SEQ ID NO: 253) o PBS sola ("tampón solo") a 37 °C y en una atmósfera de cinco por ciento de CO₂. A continuación, las células se lavaron y se combinaron con medios que contenían PBMC que son seropositivas para HLA-A02/C2. Antes del cocultivo, las PBMC se enriquecieron en células T restringidas en C2 mediante una a dos semanas de expansión del cultivo en presencia del péptido C2 (SEQ ID NO: 21) para obtener una frecuencia de aproximadamente uno a cinco por ciento de células T reactivas con en C2 (estas PBMC se denominan en el presente

documento "PBMC restringidas en C2"). Las células tumorales diana y las PBMC restringidas en C2 se incubaron conjuntamente durante 24 horas en una proporción de cinco PBMC por cada célula tumoral diana positiva (5:1) a 37 °C y en una atmósfera de cinco por ciento de CO₂. Se recogieron los sobrenadantes y se midieron las concentraciones de IFN-γ utilizando un kit de ELISA de IFN-γ específico para citocinas (Biolegend, Inc., San Diego, CA, EE. UU.), según las instrucciones del fabricante. Además, después de la recolección de los sobrenadantes, se lavaron las células tumorales adherentes diana positivas para eliminar las PBMC y se evaluó la viabilidad celular de las células adherentes restantes mediante el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (G7573 Promega Madison, WI, EE. UU.), según las instrucciones del fabricante. Las Figuras 15 y 16 muestran los resultados de estos ensayos de incubación conjunta de la línea celular I tratada con molécula de reconocimiento de células y PBMCs que detectan el complejo de HLA-A02/péptido C2 (PBMC restringidas en C2) para analizar el reconocimiento y el acoplamiento de células T intercelulares midiendo la secreción de IFN-γ y la viabilidad celular de las células tumorales.

[0955] La Figura 15 muestra los resultados del ensayo ELISA de IFN-γ. Los resultados muestran que el cocultivo de células diana tumorales (línea celular I) con PBMC restringidas en C2 después de la incubación con la molécula de reconocimiento de células "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253) pero no con "tampón solo" da como resultado la activación de células T entre las PBMC, tal como lo demuestra la detección de la secreción de IFN-γ.

[0956] La Figura 16 muestra los resultados del ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo® medido en ULR. Los resultados muestran que el cocultivo de células diana tumorales (línea celular I) con PBMC restringidas en C2 después de la incubación con la molécula de reconocimiento de células "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253) pero no con "tampón solo" da como resultado la activación de linfocitos T citotóxicos entre las PBMC y la destrucción de las células diana, tal como lo demuestran las reducciones en los porcentajes de viabilidad de las células diana tumorales adherentes.

[0957] Los datos de los ensayos de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo® y ELISA de IFN-γ demuestran que el suministro mediado por el polipéptido efector de la toxina Shiga de un péptido-epítipo fusionado a células tumorales positivas diana y la posterior presentación en la superficie celular del epítipo por parte de las células tumorales puede provocar la activación de células T específicas para liberar citocinas efectoras y provocar la muerte de las células tumorales diana (ver Figuras 15-16).

[0958] Se realizó otro ensayo de viabilidad de células tumorales de cocultivo en el que la relación E:T se mantuvo constante en 5:1 y se varió la concentración de la molécula de reconocimiento de células o las PBMC se enriquecieron en PBMC restringidas en C2. Las células utilizadas fueron las anteriores, siendo las células diana células tumorales de la línea celular I y siendo las PBMC restringidas a C2. Los resultados se compararon con el control de tampón solo. Las células tumorales diana y las PBMC restringidas en C2 se incubaron conjuntamente durante 24 horas a 37 °C y en una atmósfera con cinco por ciento de CO₂. Se lavaron células tumorales diana positivas adherentes para eliminar PBMC y se realizó el ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo®, tal como se describe anteriormente. La Tabla 8 muestra los resultados de este ensayo de viabilidad de células tumorales de cocultivo en el que la concentración ensayada de "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253) administrada se varió de forma gradual descendente entre 2 μM, 0,5 μM y 0,125 μM. Los datos se presentan como una reducción en el porcentaje de viabilidad de las células adherentes medida por el sistema de análisis de células vivas IncuCyte® S3 (EssenBioscience, Ann Arbor, MI, EE. UU.) normalizado al punto de tiempo cero (viabilidad inicial). Para los estudios de imágenes de células vivas IncuCyte® S3, las células se sembraron en placas de cultivo de tejidos estándar de 96 pocillos y se cultivaron en condiciones estándar. Los datos se obtuvieron de hasta cuatro imágenes por pocillo y se leyeron por fase, fluorescencia roja y verde mediante protocolos estándar proporcionados por el fabricante. Las comparaciones en esta muestra incluyen la inclusión de PBMC a una E:T de 5:1 que se expandieron en cultivo durante una semana antes del cocultivo con el péptido C2 pertinente (SEQ ID NO: 253) o se expandieron en cultivo durante una semana antes al cocultivo con el péptido C2 pertinente (SEQ ID NO: 21).

Tabla 8. Acoplamiento intercelular de células inmunitarias que reconocen la presentación del epítipo C2 por células diana contactadas con "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" da como resultado la destrucción de las células diana de una manera dependiente de la dosis

Concentración de SLTA-1A-DI-4::scFv6::(C2) ₃ inactiva (μM)	Reducción de la viabilidad de las células en presencia de PBMC restringidas en C2 (% de 0)
0,000	0
0,125	37
0,500	50
2.000	68

[0959] Los datos de la Tabla 8 demuestran que la cantidad de muerte de células tumorales diana inducida por una molécula de reconocimiento de células de ejemplo depende de la concentración de la molécula de reconocimiento de células administrada a las células tumorales diana y del enriquecimiento de PBMC. El cultivo conjunto de células tumorales diana positivas pretratadas con "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253) y PBMC restringidas a C2 dio como resultado reducciones en los porcentajes de viabilidad de las células tumorales diana adherentes de aproximadamente el 35 al 65 por ciento. En concentraciones de moléculas que reconocen células tan bajas como

0,125 μ M, más del 35 por ciento de las células diana adherentes murieron en la muestra de PBMC restringidas en C2. Este efecto dependía de la dosis, ya que las concentraciones de moléculas que reconocen las células de 0,5 μ M y 2 μ M indujeron una reducción en la viabilidad celular de aproximadamente el 50 y el 65 por ciento, respectivamente. Los resultados de la Tabla 8 demuestran que la concentración de la molécula de reconocimiento de las células administrada a las células diana afecta la activación general de las células T y la posterior destrucción de las células tumorales diana.

[0960] En los experimentos anteriores, la proporción de PBMC con respecto a células tumorales fue de 5 a 1. Se realizaron experimentos adicionales en los que se varió esta proporción de células efectoras de PBMC con respecto a células diana ("E:T"). Se incubaron células tumorales diana (línea celular I) con "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253) a una concentración de 500 nM durante cuatro horas a 37 °C y en una atmósfera de cinco por ciento de CO₂ seguido de cocultivo con PBMC en diversas proporciones E:T) durante más de tres días a 37 °C y en una atmósfera de cinco por ciento de CO₂. La Tabla 9 muestra los resultados de la viabilidad celular de este ensayo 80 horas después del cocultivo, medidos por confluencia en el sistema de análisis de células vivas IncuCyte® S3. Los datos se presentan como porcentaje de viabilidad en relación con el control de tampón solo en el punto final del ensayo. Se muestran comparaciones para condiciones en el contexto del tratamiento con una dosis fija de molécula de reconocimiento de células o "tampón solo" en presencia de proporciones E:T variables de PBMC con respecto a células diana (E:T = 5:1, 1:1, 0,5:1 y 0,1:1).

Tabla 9. PBMC que reconocen la presentación del epítipo C2 por las células diana contactadas con "SLT-IA-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" da como resultado la destrucción de las células diana de una manera dependiente de E:T.

Relación de efector (E) con respecto a diana (T) (E:T)	Tratamiento	
	SLTA-1A-DI-4::scFv6::(C2) ₃ inactiva	Tampón (control negativo)
	Reducción de la viabilidad de las células (% de "tampón solo")	Reducción de la viabilidad de las células (% de "tampón solo")
5,0:1,0	64	18
1,0:1,0	35	13
0,5:1,0	38	0
0,1:1,0	0	0

[0961] Los datos de la Tabla 9 demuestran que la cantidad de muerte de células tumorales diana inducida por una molécula de reconocimiento de células de ejemplo depende de la relación E:T. La Tabla 9 muestra una reducción observada en la viabilidad de las células adherentes de al menos el 60 por ciento en una relación E:T de 5:1. Así, más del 60 por ciento de las células diana adherentes murieron después de 80 horas. En proporciones más reducidas de PBMC, las células menos adherentes murieron después de 80 horas. En proporciones E:T más bajas probadas (1:1 y 0,5:1), menos del 40 por ciento de las células diana adherentes murieron. Para el control de tampón solo, menos del 20 por ciento de las células diana adherentes fueron destruidas en la relación E:T más alta de 5:1. Los resultados de las Tablas 8 y 9 demuestran que tanto la proporción de PBMC con respecto a las células tumorales diana como la concentración de la molécula de reconocimiento de las células administrada a las células tumorales diana contribuyen al mecanismo de citotoxicidad de las células tumorales inducida por la incubación con una molécula de reconocimiento de las células de ejemplo, con grandes cantidades de moléculas que reconocen células y/o PBMC que se correlacionan con una mayor muerte de las células diana.

[0962] La activación de células T específicas de antígeno se asocia con interacciones aumentadas con células vecinas y fenotipos de agrupación de células inmunitarias (véase, por ejemplo, Butz E, Bevan M, Immunity 8: 167-75 (1998)). Para investigar esto, se realizó otro ensayo de incubación conjunta de células T intercelulares de la siguiente manera para medir la agrupación de linfocitos en respuesta a las células diana que presentan el epítipo C2 suministrado formando un complejo con moléculas de MHC de clase I. Las células diana (línea celular I) se incubaron con 500 nM de "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253) durante 24 horas y a continuación se coincubaron con PBMC restringidas con C2, tal como se describe anteriormente. Para estos experimentos, los efectores de PBMC de entre las PBMC se marcaron previamente con éster succinimidílico de carboxifluoresceína (CFSE), un colorante permeable a la membrana que se utiliza para rastrear el número de células y las posiciones dentro de los pocillos de cultivo. Después de la incubación conjunta, se tomaron imágenes de PBMC individuales en los pocillos de cultivo cada cuatro a seis horas utilizando el sistema de análisis de células vivas IncuCyte® S3 (EssenBioscience, Ann Arbor, MI, EE. UU.). El número total de células positivas para CFSE y la intensidad media de la señal de CFSE se calcularon mediante el paquete de software IncuCyte® S3 utilizando los protocolos del fabricante. Los grupos de células inmunitarias (grupos de células positivas para CFSE de más de 100 micrones) se trazaron en Prism (GraphPad Prism, San Diego, CA, EE. UU.) y los resultados de estos experimentos se muestran en la Figura 17.

[0963] La Figura 17 muestra los resultados de los ensayos de acoplamiento intercelular de incubación conjunta con células de la línea celular diana I y PBMC restringidas en C2, medidos mediante agrupación de linfocitos. Los resultados de la Figura 17 muestran que la incubación de células tumorales con la molécula de reconocimiento de células "SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253), pero no "tampón solo", da como resultado la activación

de la agrupación de células entre PBMC medida por la agregación de células en grupos de más de 100 micrones de tamaño. Además, estos grupos de células PBMC muestran una persistencia prolongada, lo que demuestra que el tratamiento con una molécula de reconocimiento de células de ejemplo puede promover el acoplamiento de las células T a largo plazo en el cocultivo (véase la Figura 17 que muestra duraciones de persistencia de al menos 140 horas).

[0964] Gran parte de los datos experimentales anteriores se basan en la molécula de reconocimiento de células de ejemplo "SLT-1A-DI-4::scFv6::C2₃ inactiva" (SEQ ID NO: 253). Aquí, se informan los resultados experimentales de las pruebas otra molécula de reconocimiento de células de ejemplo: "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254).

[0965] Se realizó un ensayo de incubación conjunta de células T intercelulares de la siguiente manera para cuantificar la inducción del acoplamiento de células T intercelulares (por ejemplo, destrucción de células tumorales diana) inducido mediante el tratamiento de células tumorales con "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254). Se incubaron células de la línea celular I, J o K, cada una de las cuales es diana positiva para la molécula extracelular unida por scFv8, durante cuatro horas con 100 nM o 500 nM de "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254) o con "tampón solo" a 37°C y en una atmósfera de cinco por ciento de CO₂. A continuación, las células se lavaron y se combinaron con medios que contenían "PBMC restringidas en C2". Las células tumorales diana y las PBMC restringidas en C2 se incubaron conjuntamente durante 24 horas en una proporción de cinco PBMC restringidas en C2 por una célula tumoral positiva diana (5:1) a 37 °C y en una atmósfera con cinco por ciento de CO₂. Se recogieron los sobrenadantes y se midieron las concentraciones de IFN- γ utilizando un kit ELISA de IFN- γ específico para citocinas (Biolegend, Inc., San Diego, CA, EE. UU.), según las instrucciones del fabricante. Después de recolectar los sobrenadantes, las células tumorales adherentes positivas de diana se lavaron para eliminar las PBMC y se evaluó la viabilidad celular de las células adherentes restantes mediante el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (G7573 Promega Madison, WI, EE. UU.) en ULR, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Como control, se realizaron experimentos paralelos con 100 nM y 500 nM de la molécula de reconocimiento de células "SLT-1A-DI-1::scFv8 inactiva" (SEQ ID NO: 256), que carece de cualquier epítipo C2 (SEQ ID NO: 21) pero por lo demás comparte el 100% de identidad con "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254).

[0966] Las Figuras 18 y 19 muestran los resultados de estos ensayos de incubación conjunta usando líneas celulares tumorales de diana positiva I, J y K y usando moléculas que reconocen células ensayadas a diferentes concentraciones. Los resultados muestran que la incubación de células tumorales de diana positiva con "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO: 254) y la incubación conjunta con PBMC restringidas a C2 da como resultado la activación de células T, medida mediante secreción de IFN- γ (Figura 18), e induce la destrucción de células tumorales a través de PBMC (Figura 19), y ambos efectos ocurren de una manera dependiente de la concentración de la molécula de reconocimiento de las células. Los resultados muestran que ni "sólo tampón" ni la molécula de control negativo de reconocimiento de células que carece del péptido-epítipo C2 "SLT-1A-DI-1::scFv8 inactiva" (SEQ ID NO: 256) fueron capaz de inducir la secreción de IFN- γ después de 48 horas post-cocultivo (Figura 18) o muerte de células diana durante 96 horas de cocultivo (Figura 19) independientemente de la dosis probada. Además, estos datos demuestran la capacidad de una molécula de reconocimiento de células de ejemplo para suministrar con éxito un epítipo de células T CD8+ para la presentación de MHC I a una variedad de diferentes tipos de células tumorales, de manera que la presentación da como resultado el acoplamiento intercelular de las células T y la destrucción de las células diana mediante la acción de células T diana.

[0967] Gran parte de los datos experimentales anteriores se basan en formas "inactivas" de moléculas que reconocen células de ejemplo. Aquí se indican los resultados experimentales de la prueba de una "forma activa" de una molécula de reconocimiento de las células de ejemplo. Una molécula activa de reconocimiento de células se utiliza en el presente documento en los Ejemplos para referirse a una molécula de reconocimiento de células que comprende un polipéptido efector de toxina Shiga que es catalíticamente activo. La molécula de reconocimiento de células de ejemplo SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 (SEQ ID NO: 255) está muy estrechamente relacionada con "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva" (SEQ ID NO:254) en que sólo un aminoácido es diferente de la sustitución de aminoácido E168D (las moléculas comparten un 99,8% de identidad global y un 99,6% de identidad entre sus componentes polipeptídicos efectores de toxina Shiga). SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 (SEQ ID NO: 255) se considera activa en el presente documento con respecto a su polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga que tiene actividades catalíticas comparables a un fragmento de toxina A1 de Shiga de tipo salvaje y puede destruir una célula en la que está presente.

[0968] Se realizó un ensayo de incubación conjunta de células T intercelulares como se describió anteriormente usando SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 activa (SEQ ID NO: 255) para cuantificar el acoplamiento intercelular de las células T (por ejemplo, destrucción de células tumorales diana y activación de células T) inducido mediante el tratamiento de células tumorales con una molécula activa de reconocimiento de las células. De manera resumida, se preincubaron células de la línea celular I durante cuatro horas con "tampón solo" o con 30 o 100 nM de la molécula de reconocimiento de células SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 (SEQ ID NO: 255) y a continuación se cocultivaron con PBMC restringidas en C2 durante 48 a 96 horas a 37 °C y en una atmósfera de cinco por ciento de CO₂. Como control negativo, se realizaron experimentos paralelos con 30 o 100 nM de la molécula de reconocimiento de células SLT-1A-DI-1::scFv8 (SEQ ID NO: 257), que carece de cualquier componente de epítipo C2 (SEQ ID NO: 21), pero por lo demás comparte el 100 % de identidad con SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 (SEQ ID NO: 255). La Figura 20 muestra los resultados de los ensayos de incubación conjunta.

[0969] Se recogieron los sobrenadantes después de 48 horas de cocultivo y se midieron las concentraciones de IFN- γ usando el ensayo ELISA de IFN- γ específico de citocina como se describió anteriormente. La Figura 20 muestra los resultados del ensayo ELISA de IFN- γ . Después de 96 horas de cocultivo, se lavaron células tumorales diana adherentes positivas para eliminar las PBMC y se evaluó la viabilidad celular de las células adherentes restantes utilizando el ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo®, tal como se describió anteriormente. La Figura 20 muestra los resultados del ensayo de viabilidad de células adherentes medido por confluencia como en ULR utilizando el sistema de análisis de células vivas IncuCyte® S3 como se describe anteriormente.

[0970] Los resultados mostrados en la Figura 20 muestran que una forma catalíticamente activa de una molécula de reconocimiento de células puede funcionar de manera similar a una molécula de reconocimiento de células inactiva para promover la activación de células T medida mediante la inducción de la secreción de IFN- γ y la destrucción de células diana dependiente de células inmunitarias más allá de su mecanismo de acción más directo: muerte celular mediante inhibición de ribosomas e inducción de muerte celular programada. Estos resultados demuestran la capacidad de moléculas que reconocen células de ejemplo para promover la activación inmunitaria e inducir la destrucción de células tumorales diana a través de al menos dos mecanismos de acción distintos, que pueden funcionar de manera cooperativa para inducir más muerte de células diana en presencia de PBMC restringidas específicas de epítipo-MHC de clase I.

[0971] Además, la activación de CTL por células diana que muestran complejos de péptido-epítipo/MHC de clase I (pMHC Is) se cuantifica usando ensayos de respuesta de CTL disponibles comercialmente, por ejemplo, ensayos no radiactivos CytoTox96® (Promega, Madison, WI, EE UU.), ensayos ELISpot de Granzyme B (Mabtech, Inc., Cincinnati, OH, EE. UU.), ensayos de actividad de caspasa y ensayos de citometría de flujo de translocación LAMP-1. Para monitorizar específicamente la destrucción de células diana mediada por CTL, se usa éster succinimidílico de carboxifluoresceína (CFSE) para reconocer células para investigación in vitro e in vivo, tal como se describe en la técnica (ver, por ejemplo, Durward M et al., J Vis Exp 45 pii 2250 (2010)).

Ejemplo 3. Moléculas que reconocen células de melanoma que comprenden polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga y péptidos-epitopos de células T CD8+

[0972] En este ejemplo, el polipéptido efector de la toxina Shiga se deriva de la subunidad A de la toxina 1 similar a Shiga (SLT-1A) como se describió anteriormente con sustituciones de residuos de aminoácidos que confieren desinmunización (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2016/196344), hiperinmunización de células T CD8+ (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2016/196344), y resistencia a la escisión por furina, tal como, por ejemplo, R248A/R251A (WO 2015/191764; WO 2016/196344). Se selecciona un péptido-epítipo de células T CD8+ humanas basándose en predicciones de unión a molécula MHC I, tipo de HLA, inmunogenicidades ya caracterizadas y/o reactivos fácilmente disponibles como se describió anteriormente, tales como el péptido-epítipo C1-2 GLDRNSGNY (SEQ ID NO: 20). Se inserta una región de unión proteica en el polipéptido efector SLT-1A que se une a células de melanoma (véase, por ejemplo, Cheung M et al., Mol Cancer 9: 28 (2010)).

Construcción y producción de proteínas de fusión que reconocen células de melanoma

[0973] El polipéptido efector de la toxina Shiga y el epítipo de células T CD8+ se fusionan para formar un polipéptido único y continuo, de manera que el epítipo de células T CD8+ no esté incluido ni incluido en el polipéptido efector de la toxina Shiga.

Determinación de las características in vitro de las moléculas que reconocen células de melanoma

[0974] Las características de unión de las moléculas que reconocen células de este ejemplo para células de melanoma se determinan mediante citometría de flujo basada en fluorescencia. Se mide que Bmax para ciertas proteínas de fusión que reconocen células de melanoma de este ejemplo con respecto a células positivas es de aproximadamente 50.000-200.000 MFI con una K_D dentro del intervalo de 0,01-100 nM.

[0975] Las capacidades de inactivación de ribosomas de las proteínas de fusión que reconocen células de melanoma de este Ejemplo se determinan en una traducción de proteínas in vitro, libre de células, tal como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores. El efecto inhibitorio de las moléculas que reconocen células de este ejemplo sobre la síntesis de proteínas libres de células es significativo. Para determinadas proteínas de fusión que reconocen células de melanoma, la IC₅₀ para la síntesis de proteínas en este ensayo sin células es de aproximadamente 0,1-100 pM.

Determinación de las funciones de suministro de carga de péptido-epítipo CD8+ de moléculas que reconocen células de melanoma

[0976] El suministro exitoso de un epítipo de células T se puede determinar mediante la detección de complejos de molécula de MHC de clase I/epítipo específicos en la superficie celular (pMHC Is). Para probar si una molécula de reconocimiento de células puede suministrar carga de epítipo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC

de clase I de las células diana, se emplean ensayos de rutina que detectan moléculas de MHC de clase I humanas complejadas con epítomos específicos, tales como, por ejemplo uno o más ensayos descritos en los Ejemplos 1 y 2.

[0977] Las células de melanoma tratadas con proteínas de fusión que reconocen células de melanoma muestran una señal positiva para los complejos de epítomo C1-2/MHC clase I en superficie celular, a menudo en la mayoría de las células tratadas dependiendo de la duración de la incubación. La detección del epítomo de células T (por ejemplo, C1-2 (SEQ ID NO: 20)) complejado con moléculas de MHC de clase I humanas en la superficie celular de células diana tratadas con moléculas que reconocen células demuestra que la molécula de reconocimiento de células es capaz de entrar en las células de melanoma diana, realizar suficiente enrutamiento subcelular y suministrar suficiente carga de péptido-epítomo de células T CD8+ a la vía del MHC de clase I para la presentación en la superficie por parte de la célula diana.

Determinación de la citotoxicidad de moléculas que reconocen células de melanoma mediante un ensayo de destrucción celular

[0978] Las características de citotoxicidad de las proteínas de fusión que reconocen células de melanoma de este Ejemplo se determinan mediante el ensayo general de destrucción celular tal como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores utilizando células de melanoma. Los valores de CD₅₀ de las moléculas que reconocen células de este ejemplo son aproximadamente 0,01-100 nM para células de melanoma dependiendo de la línea celular. Además, se investigan la inducción del acoplamiento intermolecular de células T CD8+ de células diana de melanoma que presentan el epítomo de células T CD8+ suministrado y la citotoxicidad de las proteínas de fusión que reconocen células de melanoma de este ejemplo para determinar la citotoxicidad indirecta mediante el suministro de epítomo de células T CD8+ heterólogo y presentación que conduce a citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento.

Determinación de los efectos in vivo de las moléculas que reconocen células de melanoma utilizando modelos animales

[0979] Se usan modelos animales para determinar los efectos in vivo de ciertas proteínas de fusión que reconocen células de melanoma de este ejemplo en células de melanoma (véase, por ejemplo, Cheung M et al., Mol Cancer 9: 28 (2010)). Se utilizan diversas cepas de ratones para probar el efecto de la administración intravenosa de proteínas de fusión que reconocen células de melanoma de este ejemplo en células de melanoma humano en ratones. Los efectos de destrucción celular se investigan tanto para la citotoxicidad directa como para la citotoxicidad indirecta por el suministro y presentación de epítomos de células T CD8+ que conducen a la citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento. De manera opcional, se usan variantes "inactivas" de las moléculas que reconocen células de este ejemplo (por ejemplo, E167D) para investigar la citotoxicidad indirecta por el suministro de epítomos de células T CD8+ en ausencia de la actividad catalítica de cualquier componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula que reconoce células.

Ejemplo 4. Moléculas que reconocen células que reconocen complejos de epítomos-MHC que comprenden polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga y péptidos epítomos de células T CD8+

[0980] En este ejemplo, el polipéptido efector de la toxina Shiga se deriva de la subunidad A de la toxina 1 similar a Shiga (SLT-1A) como se describió anteriormente con sustituciones de residuos de aminoácidos que confieren desinmunización (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2016/196344), hiperinmunización de células T CD8+ (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2016/196344), y resistencia a la escisión por furina, tal como, por ejemplo, R248A/R251A (WO 2015/191764; WO 2016/196344). Se selecciona un péptido-epítomo de células T CD8+ humanas basándose en predicciones de unión de moléculas MHC I, tipos de HLA, inmunogenicidades ya caracterizadas y/o reactivos fácilmente disponibles como se describió anteriormente, tales como el péptido-epítomo C1-2 GLDRNSGNY (SEQ ID N°:20). Una región de unión proteica se deriva de un anticuerpo similar a un receptor de células T específico para un complejo particular de péptido-epítomo-molécula de MHC, tal como, por ejemplo, WT1 ab1 (US2014/294841) que es capaz de unirse específicamente a HLA-A0201 unido a un péptido-epítomo RMFPNAPYL de la proteína del oncogén del tumor de Wilms (WT1) (SEQ ID NO: 798). Los complejos HLA-A2-WT1 pueden ser expresados por varios tipos de células cancerosas, tales como células cancerosas de cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, leucemia mielocítica crónica, mieloma múltiple (MM), leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mieloide/mielogénica aguda (AML) y del síndrome mielodisplásico (MDS).

Construcción y producción de proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen complejos de epítomos MHC

[0981] La región de unión de tipo inmunoglobulina α HLA-WT1, el polipéptido efector de la toxina Shiga y el epítomo de células T CD8+ se fusionan para formar un polipéptido único y continuo, tal como "SLT-1A::C1-2:: α HLA-WT1" o "SLT-1A:: α HLA-WT1::C1-2" y, de manera opcional, se añade un KDEL (SEQ ID NO: 750) al extremo carboxilo del polipéptido resultante.

Determinación de las características in vitro de las moléculas que reconocen células y que reconocen el complejo de epítomo-MHC

[0982] Las características de unión de las moléculas que reconocen células de este ejemplo para células positivas y negativas del complejo de molécula de MHC I-epítipo específico se determinan mediante citometría de flujo basada en fluorescencia. Se mide que la Bmax para ciertas proteínas de fusión que reconocen células y reconocen complejos de MHC-epítipo de este ejemplo para células positivas es de aproximadamente 50.000-200.000 MFI con una K_D dentro del intervalo de 0,01-100 nM, mientras que no hay una unión significativa a las respectivas células negativas del complejo de MHC-epítipo en este ensayo.

[0983] Las capacidades de inactivación de ribosomas de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen complejos de MHC-epítipo de este Ejemplo se determinan en una traducción de proteínas in vitro, libre de células, tal como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores. El efecto inhibitorio de las moléculas que reconocen células de este ejemplo sobre la síntesis de proteínas libres de células es significativo. Para ciertas proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen complejos de MHC-epítipo, la IC_{50} para la síntesis de proteínas en este ensayo sin células es de aproximadamente 0,1-100 pM.

Determinación de las funciones de suministro de carga de péptido-epítipo CD8+ de moléculas que reconocen células y que reconocen complejos de MHC-epítipo

[0984] El suministro exitoso de un epítipo de células T se puede determinar mediante la detección de complejos de molécula de MHC de clase I/epítipo específicos en la superficie celular (pMHC Is). Para probar si una molécula de reconocimiento de células puede suministrar carga de epítipo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I de las células diana, se emplean ensayos de rutina que detectan moléculas de MHC de clase I humanas complejadas con epítopos específicos, tales como, por ejemplo uno o más ensayos descritos en los Ejemplos 1 y 2.

[0985] Las células tratadas con proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen el complejo de epítipo-MHC muestran una señal positiva para los complejos de epítipo C1-2 /MHC de clase I en la superficie celular, a menudo en la mayoría de las células tratadas dependiendo de la duración de la incubación. La detección del epítipo de células T C1-2 (SEQ ID NO: 20) complejado con moléculas de MHC de clase I humanas en la superficie celular de células diana tratadas con la molécula de reconocimiento de células demuestra que la molécula de reconocimiento de células es capaz de entrar en las células diana, realizar suficiente enrutamiento subcelular y suministrar suficiente carga de péptido-epítipo de células T CD8+ a la vía del MHC de clase I para la presentación en la superficie por parte de la célula diana.

Determinación de la citotoxicidad de moléculas que reconocen células y que reconocen el complejo de epítipo-MHC mediante un ensayo de destrucción celular

[0986] Las características de citotoxicidad de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen el complejo de epítipo-MHC de este Ejemplo se determinan mediante el ensayo general de destrucción celular como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores usando células positivas para el complejo de epítipo-MHC específico. Además, las características de citotoxicidad selectiva de las mismas proteínas de fusión que reconocen células que reconocen el complejo de epítipo-MHC de este ejemplo se determinan mediante el mismo ensayo de destrucción celular general usando las respectivas células negativas del complejo de epítipo-MHC como comparación con las células positivas para el complejo MHC-epítipo apropiado. Los valores de CD_{50} de las moléculas que reconocen células de este ejemplo son aproximadamente 0,01-100 nM para células positivas para el complejo MHC-epítipo dependiendo de la línea celular. Los valores de CD_{50} de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen complejos de epítipo-MHC de este ejemplo son aproximadamente 10-10.000 veces mayores (menos citotóxicas) para células que no expresan el complejo de epítipo-MHC apropiado en una superficie celular en comparación con células que expresan el complejo MHC-epítipo apropiado en una superficie celular. Además, se investiga la inducción del acoplamiento intermolecular con células T CD8+ de células diana presentadoras de C1-2 y la citotoxicidad de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen el complejo de epítipo-MHC de este ejemplo para determinar la citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de epítipo de célula T CD8+ heterólogo que conducen a citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento.

Determinación de los efectos in vivo de las moléculas que reconocen células y que reconocen el complejo de epítipo-MHC utilizando modelos animales

[0987] Se utilizan modelos animales para determinar los efectos in vivo de ciertas proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen complejos de epítipo-MHC de este ejemplo en células neoplásicas. Se utilizan diversas cepas de ratones para probar el efecto de la administración intravenosa de proteínas de fusión que reconocen células que reconocen el complejo de epítipo-MHC de este ejemplo sobre células positivas para el complejo de epítipo-MHC específico en ratones. Los efectos de destrucción celular se investigan tanto para la citotoxicidad directa como para la citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de epítopos de células T CD8+ que conducen a la citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento. De manera opcional, se usan variantes "inactivas" de las moléculas que reconocen células de este ejemplo (por ejemplo, E167D) para investigar la citotoxicidad indirecta mediante el suministro de epítopos de células T CD8+ en ausencia

de la actividad catalítica de cualquier componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula que reconoce células.

Ejemplo 5. Moléculas que reconocen células, que reconocen IL-2R, que comprenden polipéptidos efectores de la subunidad A de la toxina Shiga y péptidos-epítomos de células T CD8+

[0988] En este ejemplo, el polipéptido efector de la toxina Shiga se deriva de la subunidad A de la toxina 1 similar a Shiga (SLT-1A) como se describió anteriormente con sustituciones de residuos de aminoácidos que confieren desinmunización (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2016/196344), hiperinmunización de células T CD8+ (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2016/196344), y resistencia a la escisión por furina, tal como, por ejemplo, R248A/R251A (WO 2015/191764; WO 2016/196344). Se selecciona un péptido-epítomo de células T CD8+ humanas basándose en predicciones de unión de moléculas MHC I, tipos de HLA, inmunogenicidades ya caracterizadas y/o reactivos fácilmente disponibles como se describió anteriormente, tales como el péptido-epítomo C1-2 GLDRNSGNY (SEQ ID NO: 20). Una región de unión proteica se deriva de un ligando (la citocina interleucina 2 o IL-2) para el receptor de interleucina 2 humana (IL-2R), que es capaz de unirse específicamente a una parte extracelular del IL-2R humano. IL-2R es un receptor de superficie celular expresado por varios tipos de células inmunitarias, tales como las células T y las células asesinas naturales.

Construcción y producción de proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R

[0989] La región de unión de tipo ligando αIL-2R, el polipéptido efector de la toxina Shiga y el epítomo de células T CD8+ se fusionan para formar un polipéptido único y continuo, tal como "C1-2::SLT-1A::IL-2" o "IL-2::C1-2::SLT-1A" y, de manera opcional, se añade un KDEL (SEQ ID NO: 750) al extremo carboxilo del polipéptido resultante.

Determinación de las características in vitro de las moléculas que reconocen células y que reconocen IL-2R

[0990] Las características de unión de las moléculas que reconocen células de este ejemplo para células positivas para IL-2R y células negativas para IL-2R se determinan mediante citometría de flujo basada en fluorescencia. Se mide que la Bmax para ciertas proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este ejemplo para células positivas es de aproximadamente 50.000-200.000 MFI con una K_D dentro del intervalo de 0,01-100 nM, mientras que no hay unión significativa a células negativas para IL-2R en este ensayo.

[0991] Las capacidades de inactivación de ribosomas de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este Ejemplo se determinan en una traducción de proteínas in vitro, libre de células, tal como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores. El efecto inhibitorio de las moléculas que reconocen células de este ejemplo sobre la síntesis de proteínas libres de células es significativo. Para ciertas proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R, la IC_{50} para la síntesis de proteínas en este ensayo sin células es de aproximadamente 0,1-100 pM.

Determinación de las funciones de suministro de carga de péptido-epítomo CD8+ de moléculas que reconocen células y que reconocen IL-2R

[0992] El suministro exitoso de un epítomo de células T se puede determinar mediante la detección de complejos de molécula de MHC de clase I/epítomo específicos en la superficie celular (pMHC Is). Para probar si una molécula de reconocimiento de células puede suministrar carga de epítomo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I de las células diana, se emplean ensayos de rutina que detectan moléculas de MHC de clase I humanas complejadas con epítomos específicos, tales como, por ejemplo uno o más ensayos descritos en los Ejemplos 1 y 2.

[0993] Las células tratadas con proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R muestran una señal positiva para los complejos de epítomo C1-2/MHC clase I en la superficie celular, a menudo en la mayoría de las células tratadas dependiendo de la duración de la incubación. La detección del epítomo de células T C1-2 (SEQ ID NO: 20) complejado con moléculas de MHC de clase I humanas en la superficie celular de células diana tratadas con la molécula de reconocimiento de células demuestra que la molécula de reconocimiento de células es capaz de entrar en las células diana, realizar suficiente enrutamiento subcelular y suministrar suficiente carga de epítomo de células T CD8+ a la vía del MHC de clase I para la presentación en la superficie por parte de la célula diana.

Determinación de la citotoxicidad de moléculas que reconocen células y que reconocen IL-2R mediante un ensayo de destrucción celular

[0994] Las características de citotoxicidad de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este Ejemplo se determinan mediante el ensayo general de destrucción celular como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores usando células positivas para IL-2R. Además, las características de citotoxicidad selectiva de las mismas proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este ejemplo se determinan mediante el mismo ensayo general de destrucción celular usando células negativas para IL-2R como comparación con las células positivas para IL-2R. Los valores de CD_{50} de las moléculas que reconocen células de este ejemplo son aproximadamente 0,01-100 nM para células positivas para IL-2R dependiendo de la línea celular. Los valores

de CD₅₀ de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este ejemplo son aproximadamente 10-10.000 veces mayores (menos citotóxicas) para células que no expresan IL-2R en una superficie celular en comparación con células que sí expresan IL-2R en una superficie celular. Además, se investiga la inducción del acoplamiento intermolecular de células T CD8+ de células diana presentadoras de C1-2 y la citotoxicidad de proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este ejemplo para determinar la citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de epítomos de células T CD8+ heterólogos que conducen a citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento.

Determinación de los efectos in vivo de las moléculas que reconocen células y que reconocen IL-2R utilizando modelos animales

[0995] Se utilizan modelos animales para determinar los efectos in vivo de ciertas proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este ejemplo en células neoplásicas. Se usan diversas cepas de ratones para probar el efecto de la administración intravenosa de proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen IL-2R de este ejemplo sobre células positivas para IL-2R en ratones. Los efectos de destrucción celular se investigan tanto para la citotoxicidad directa como para la citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de epítomos de células T CD8+ que conducen a la citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento. De manera opcional, se usan variantes "inactivas" de las moléculas que reconocen células de este ejemplo (por ejemplo, E167D) para investigar la citotoxicidad indirecta mediante el suministro de epítomos de células T CD8+ en ausencia de la actividad catalítica de cualquier componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula que reconoce células.

Ejemplo 6. Moléculas que reconocen células, que reconocen CEA, que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga y un epítomo heterólogo de células T CD8+

[0996] La expresión de antígenos carcinoembrionarios (CEA) en humanos adultos está asociada con células cancerosas, tales como, por ejemplo, adenocarcinomas de mama, colon, pulmón, páncreas y estómago. En este ejemplo, el polipéptido efector de la toxina Shiga se deriva de la subunidad A de la toxina Shiga (StxA) (SEQ ID NO: 2) como se describió anteriormente con sustituciones de residuos de aminoácidos que confieren desinmunización (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2016/196344), hiperinmunización de células T CD8+ (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2016/196344), y resistencia a la escisión por furina, tal como, por ejemplo, R248A/R251A (WO 2015/191764; WO 2016/196344). Se selecciona un péptido-epítomo de células T CD8+ humanas basándose en predicciones de unión de moléculas MHC I, tipos de HLA, inmunogenicidades ya caracterizadas y/o reactivos fácilmente disponibles como se describió anteriormente, tales como el epítomo F3 ILRGSVAHK (SEQ ID NO: 26) descrito en los documentos WO 2015/113005 y WO 2016/196344. La región de unión α CEA de tipo inmunoglobulina, que se une específicamente y con alta afinidad a un antígeno extracelular en el antígeno carcinoembrionario humano (CEA), tal como la región de unión C743 derivada del décimo dominio de fibronectina humana tipo III como se describe en Pirie C et al., J Biol Chem 286: 4165-72 (2011).

Construcción, producción y purificación de moléculas que reconocen células y que reconocen CEA

[0997] El polipéptido efector de la toxina Shiga, el polipéptido de la región de unión α CEA y la carga de epítomo de células T CD8+ heterólogo se unen operativamente entre sí usando métodos estándar conocidos por el experto para formar moléculas que reconocen células. Por ejemplo, las proteínas de fusión se producen expresando un polinucleótido que codifica una o más de StxA:: α CEA::F3, StxA::F3:: α CEA, α CEA::StxA::F3, F3:: α CEA::StxA, α CEA::F3::StxA, y F3::StxA:: α CEA, cada una de las cuales tiene de manera opcional uno o más enlazadores proteicos descritos en el presente documento entre los componentes proteicos fusionados. La expresión de estas proteínas de fusión de ejemplo que reconocen CEA se logra utilizando sistemas de traducción de proteínas bacterianos y/o libres de células, tal como se describe en los Ejemplos anteriores.

Determinación de las características in vitro de proteínas de fusión de ejemplo que reconocen CEA y que reconocen células

[0998] Las características de unión de la molécula de reconocimiento de células de este ejemplo para células positivas para CEA y células negativas para CEA se determinan mediante citometría de flujo basada en fluorescencia. Se mide que el B_{máximo} para StxA:: α CEA::F3, StxA::F3:: α CEA, α CEA::StxA::F3, F3:: α CEA::StxA, (α CEA::F3::StxA y F3::StxA:: α CEA para CEA positivas es de aproximadamente 50.000-200.000 MFI con una K_D dentro del intervalo de 0,01-100 nM, mientras que no hay unión significativa a células CEA negativas en este ensayo.

[0999] Las capacidades de inactivación de ribosomas de las proteínas de fusión de este Ejemplo se determinan en una traducción de proteínas in vitro, libre de células, tal como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores. El efecto inhibitorio de las proteínas de fusión citotóxicas de este ejemplo sobre la síntesis de proteínas libres de células es significativo. Los valores de IC₅₀ sobre la síntesis de proteínas en este ensayo sin células medidos para StxA:: α CEA::F3, StxA::F3:: α CEA, α CEA::StxA::F3, F3:: α CEA::StxA, α CEA::F3::SLxA y F3::SLxA:: α CEA son cada uno de aproximadamente 0,1-100 pM.

Determinación de las funciones de suministro de carga de péptido-epítipo CD8+ de moléculas que reconocen células y que reconocen CEA

5 [1000] El suministro exitoso de un epítipo de células T se puede determinar mediante la detección de complejos de molécula de MHC de clase I/epítipo específicos en la superficie celular (pMHC Is). Para probar si una molécula de reconocimiento de células puede suministrar carga de epítipo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I de las células diana, se emplean ensayos de rutina que detectan moléculas de MHC de clase I humanas complejadas con epítopos específicos, tales como, por ejemplo uno o más ensayos descritos en los Ejemplos 1 y 2.

10 [1001] Las células tratadas con proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen CEA muestran una señal positiva para los complejos de epítipo F3/MHC de clase en la superficie celular, a menudo en la mayoría de las células tratadas dependiendo de la duración de la incubación. La detección del epítipo F3 de células T CD8+ (SEQ ID NO: 26) complejado con moléculas de MHC de clase I humanas en la superficie celular de las células diana tratadas con la molécula de reconocimiento de células demuestra que la molécula de reconocimiento celular es capaz de entrar en las células diana, realizar suficiente enrutamiento subcelular y suministrar suficiente carga de epítipo de células T CD8+ a la vía del MHC de clase I para la presentación en la superficie por parte de la célula diana.

Determinación de la citotoxicidad de proteínas de fusión de ejemplo que reconocen células y que reconocen CEA utilizando un ensayo de destrucción celular

20 [1002] Las características de citotoxicidad de la molécula de reconocimiento de células de este Ejemplo se determinan mediante el ensayo general de destrucción celular como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores utilizando células positivas para CEA. Además, las características de citotoxicidad selectiva de las proteínas de fusión de ejemplo que reconocen células y que reconocen CEA se determinan mediante el mismo ensayo general de destrucción celular utilizando células negativas para CEA como comparación con las células positivas para el antígeno CEA. Los valores de CD₅₀ medidos para StxA::αCEA::F3, StxA::F3::αCEA, αCEA::StxA::F3, F3::αCEA::StxA, αCEA::F3::StxA y F3::SLxA::αCEA son aproximadamente 0,01-100 nM para células positivas para CEA dependiendo de la línea celular. Los valores de CD₅₀ de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen CEA de este ejemplo son aproximadamente 10-10.000 veces mayores (menos citotóxicas) para células que no expresan CEA en una superficie celular en comparación con células que sí expresan CEA en una superficie celular. Además, la inducción del acoplamiento intermolecular con las células T CD8+ de las células diana presentadoras de F3 y la citotoxicidad de StxA::αCEA::F3, StxA::F3::αCEA, αCEA::StxA::F3, F3::αCEA::StxA, αCEA::F3::StxA y F3::StxA::αCEA se investigan para detectar citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de epítipo heherólogo de células T CD8+ que conducen a citotoxicidad mediada por CTL utilizando ensayos conocidos por el trabajador cualificado y/o descrito en el presente documento.

Determinación de los efectos in vivo de una proteína de fusión de ejemplo de reconocimiento de células y de reconocimiento de CEA utilizando modelos animales

40 [1003] Se utilizan modelos animales para determinar los efectos in vivo de proteínas de fusión que reconocen CEA de ejemplo en células neoplásicas. Se utilizan varias cepas de ratones para probar los efectos en tumores de xenoinjerto de las proteínas de fusión que reconocen células StxA::αCEA::F3, StxA::F3::αCEA, αCEA::StxA::F3, F3::αCEA::StxA, αCEA::F3::StxA y F3::StxA::αCEA después de la administración intravenosa a ratones inyectados con células neoplásicas humanas que expresan CEA(s) en sus superficies celulares. La destrucción celular se investiga tanto para la citotoxicidad directa como para la citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de carga de epítipo de células T CD8+ que conduce a la citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento. De manera opcional, se usan variantes "inactivas" de las moléculas que reconocen células de este ejemplo (por ejemplo, E167D) para investigar la citotoxicidad indirecta causada por el suministro de epítopos de células T CD8+ en ausencia de la actividad catalítica de cualquier componente polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula de reconocimiento de células.

Ejemplo 7. Moléculas que reconocen células y que reconocen HER2 que comprenden un polipéptido efector de toxina Shiga y un epítipo heterólogo de células T CD8+

55 [1004] Se ha observado sobreexpresión de HER2 en células tumorales de células germinales de mama, colorrectal, endometrio, esófago, gástrico, cabeza y cuello, pulmón, ovario, próstata, páncreas y testículo. En este ejemplo, el polipéptido efector de la toxina Shiga se deriva de la subunidad A de StxA (SEQ ID NO: 2), tal como se describió anteriormente con sustituciones de residuos de aminoácidos que confieren desimmunización (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2016/196344), hiperinmunización de células T CD8+ (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2016/196344), y resistencia a la escisión por furina, tal como, por ejemplo, R248A/R251A (WO 2015/191764; WO 2016/196344). Se selecciona un péptido-epítipo de células T CD8+ humanas basándose en predicciones de unión de moléculas MHC I, tipos de HLA, inmunogenicidades ya caracterizadas y/o reactivos fácilmente disponibles, tal como se describió anteriormente, tales como el epítipo C3 GVMTRGR LK (SEQ ID NO: 22) descrito en los documentos WO 2015/113005 y WO 2016/196344. La región de unión αHER2, que se une a una parte extracelular de HER2 humano, se genera mediante cribado o se selecciona entre polipéptidos de tipo inmunoglobulina

disponibles conocidos por el experto (véase, por ejemplo, la repetición de anquirina DARPIn™ G3 que se une con alta afinidad a un epítipo extracelular de HER2 (Goldstein R et al., Eur J Nucl Med Mol Imaging 42: 288-301 (2015))).

Construcción, producción y purificación de moléculas que reconocen células y que reconocen HER2

5 [1005] El polipéptido efector de la toxina Shiga, el polipéptido de la región de unión a α HER2 y la carga de epítipo de células T CD8+ heterólogo se unen operativamente entre sí usando métodos estándar conocidos por el experto para formar moléculas que reconocen células. Por ejemplo, las proteínas de fusión se producen expresando un polinucleótido que codifica uno o más de StxA:: α HER2::C3, StxA::C3:: α HER2, α HER2::StxA::C3, C3:: α HER2::StxA, α HER2::C3::StxA, y C3::StxA:: α HER2, cada uno de los cuales tiene de manera opcional uno o más enlazadores proteicos descritos en el presente documento entre los componentes proteicos fusionados. La expresión de estas proteínas de fusión de ejemplo que reconocen HER2 se logra usando sistemas de traducción de proteínas bacterianos y/o libres de células, tal como se describe en los Ejemplos anteriores.

15 Determinación de las características in vitro de proteínas de fusión de ejemplo que reconocen células y que reconocen HER2

[1006] Las características de unión de la molécula de reconocimiento de células de este ejemplo para células HER2 positivas y células HER2 negativas se determinan mediante citometría de flujo basada en fluorescencia. La $B_{m\acute{a}xima}$ para StxA:: α HER2::C3, StxA::C3:: α HER2, α HER2::StxA::C3, C3:: α HER2::StxA, α HER2::C3::StxA y C3::StxA:: α HER2 con respecto a células HER2 positivas se han medido que son cada una de aproximadamente 50.000-200.000 MFI con una K_D dentro del intervalo de 0,01-100 nM, mientras que no hay unión significativa a las células HER2 negativas en este ensayo.

25 [1007] Las capacidades de inactivación de ribosomas de las proteínas de fusión de este Ejemplo se determinan en una traducción de proteínas in vitro, libre de células, tal como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores. El efecto inhibitorio de las proteínas de fusión citotóxicas de este ejemplo sobre la síntesis de proteínas libres de células es significativo. Los valores de CI_{50} sobre la síntesis de proteínas en este ensayo sin células medidos para StxA:: α HER2::C3, StxA::C3:: α HER2, α HER2::StxA::C3, C3:: α HER2::StxA, α HER2::C3::StxA y C3::StxA:: α HER2 son cada uno de aproximadamente 0,1-100 pM.

Determinación de las funciones de suministro de carga de péptido-epítipo CD8+ de moléculas que reconocen células y que reconocen HER2

35 [1008] El suministro exitoso de un epítipo de células T se puede determinar mediante la detección de complejos de molécula de MHC de clase I/epítipo en la superficie celular específica (pMHC Is). Para probar si una molécula de reconocimiento de células puede suministrar carga de epítipo de células T CD8+ a la vía de presentación del MHC de clase I de las células diana, se emplean ensayos de rutina que detectan moléculas de MHC de clase I humanas complejadas con epítopos específicos, tales como, por ejemplo uno o más ensayos descritos en los Ejemplos 1 y 2.

40 [1009] Las células tratadas con proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen HER2 muestran una señal positiva para los complejos de epítipo C3/MHC de clase I de superficie celular, a menudo en la mayoría de las células tratadas dependiendo de la duración de la incubación. La detección del epítipo C3 de células T CD8+ (SEQ ID NO: 22) complejado con moléculas de MHC humano de clase I en la superficie celular de las células diana tratadas con la molécula de reconocimiento celular demuestra que la molécula de reconocimiento celular es capaz de entrar en las células diana, realizar un enrutamiento subcelular suficiente y suministrar suficiente carga de péptido-epítipo de células T CD8+ a la vía del MHC de clase I para la presentación en la superficie por parte de la célula diana.

50 Determinación de la citotoxicidad de proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen HER2 de ejemplo mediante un ensayo de destrucción celular

[1010] Las características de citotoxicidad de la molécula de reconocimiento de células de este Ejemplo se determinan mediante el ensayo general de destrucción celular tal como se describe anteriormente en los Ejemplos anteriores utilizando células positivas para HER2. Además, las características de citotoxicidad selectiva de las proteínas de fusión de ejemplo que reconocen células y que reconocen HER2 se determinan mediante el mismo ensayo general de destrucción celular utilizando células negativas para HER2 como comparación con las células positivas para el antígeno HER2. Los valores de CD_{50} medidos para StxA:: α HER2::C3, StxA::C3:: α HER2, α HER2::StxA::C3, C3:: α HER2::StxA, α HER2::C3::StxA y C3::StxA:: α HER2 son aproximadamente 0,01-100 nM para células positivas para HER2 dependiendo de la línea celular. Los valores de CD_{50} de las proteínas de fusión que reconocen células y que reconocen HER2 de este ejemplo son aproximadamente 10-10.000 veces mayores (menos citotóxicas) para células que no expresan HER2 en una superficie celular en comparación con células que sí expresan HER2 en una superficie celular. Además, la inducción del acoplamiento intermolecular con las células T CD8+ de las células diana presentadoras de C3 y la citotoxicidad de StxA:: α HER2::C3, StxA::C3:: α HER2, α HER2::StxA::C3, C3:: α HER2::StxA, α HER2::C3::StxA y C3::StxA:: α HER2 se investigan para detectar citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de epítipo de células T CD8+ heterólogo que conduce a citotoxicidad mediada por CTL utilizando ensayos conocidos por el trabajador cualificado y/o descritos en el presente documento.

Determinación de los efectos *in vivo* de una proteína de fusión de reconocimiento de células y de reconocimiento de HER2 de ejemplo utilizando modelos animales

5 [1011] Se utilizan modelos animales para determinar los efectos *in vivo* de proteínas de fusión que reconocen HER2 de ejemplo en células neoplásicas. Se utilizan varias cepas de ratones para probar los efectos en tumores de xenoinjerto de las proteínas de fusión que reconocen células StxA::αHER2::C3, StxA::C3::αHER2, αHER2::StxA::C3, 10 C3::αHER2::StxA, αHER2::C3::StxA y C3::StxA::αHER2 después de la administración intravenosa a ratones inyectados con células neoplásicas humanas que expresan HER2(s) en sus superficies celulares. La muerte celular se investiga tanto para la citotoxicidad directa como para la citotoxicidad indirecta mediante el suministro y presentación de carga de epítipo de células T CD8+ que conduce a la citotoxicidad mediada por CTL usando ensayos conocidos por el experto y/o descritos en el presente documento. De manera opcional, se usan variantes "inactivas" de las moléculas que reconocen células de este ejemplo (por ejemplo, E167D) para investigar la citotoxicidad indirecta causada por la administración de epítopos de células T CD8+ en ausencia de la actividad catalítica de cualquier componente de polipeptídico efector de la toxina Shiga de la molécula que reconoce células.

Ejemplo 8. Moléculas que reconocen células que reconocen diversos tipos de células, comprendiendo cada una un polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga y uno o más péptidos-epítopos heterólogos de células T CD8+ situados en el extremo carboxilo terminal con respecto al componente del polipéptido efector de la subunidad A de la toxina Shiga

20 [1012] En este ejemplo, tres estructuras proteicas se asocian entre sí para formar moléculas que reconocen células de ejemplo. En este ejemplo, el polipéptido efector de la toxina Shiga se deriva de la subunidad A de SLT-1A (SEQ ID NO: 1), tal como se describió anteriormente con sustituciones de residuos de aminoácidos que confieren desinmunización (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2015/113007; WO 2016/196344), hiperinmunización de células T CD8+ (ver, por ejemplo, WO 2015/113005; WO 2016/196344), y resistencia a la escisión por furina, tal como, por ejemplo, R248A/R251A (WO 2015/191764; WO 2016/196344). Se seleccionan uno o más péptidos-epítopos de células T CD8+, tales como, por ejemplo, basándose en predicciones de unión de moléculas de MHC I, tipos de HLA, inmunogenicidades ya caracterizadas y/o reactivos fácilmente disponibles tal como se describe en el presente documento. Un componente de la región de unión se deriva del dominio de inmunoglobulina de la molécula elegida de la columna 1 de la Tabla 10 y que se une a la biomolécula diana extracelular indicada en la columna 2 de la Tabla 10.

35 [1013] Usando reactivos y técnicas conocidas en la técnica, los tres componentes: 1) el ligando o región de unión derivada de inmunoglobulina, 2) el polipéptido efector de la toxina Shiga y 3) el o los epítopos-péptidos de células T CD8+ o un polipéptido más grande que comprende al menos un péptido-epítipo de células T CD8+ heterólogo, están asociados entre sí para formar una molécula de reconocimiento de células y, de manera opcional, el péptido-epítipo de células T CD8+ está ubicado en el extremo carboxilo con respecto al extremo carboxilo de la región del fragmento A1 de la toxina Shiga del polipéptido efector de la toxina Shiga que de manera opcional comprende un motivo de escisión por furina alterado. Las moléculas de ejemplo que reconocen células de este Ejemplo se prueban como se describe en los Ejemplos anteriores usando células que expresan las biomoléculas diana extracelulares apropiadas. Las moléculas que reconocen células de ejemplo de este Ejemplo se pueden usar, por ejemplo, para diagnosticar y tratar enfermedades, afecciones y/o trastornos indicados en la columna 3 de la Tabla 10.

Tabla 10. Varias regiones de unión para el reconocimiento celular

Origen de la región de unión	Diana extracelular	Aplicación o aplicaciones
alemtuzumab	CD52	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
basiliximab	CD25	trastornos de células T, tales como la prevención de rechazos de trasplante de órganos y algunos cánceres del linaje de células B
brentuximab	CD30	cánceres hematológicos, trastornos inmunitarios relacionados con células B y trastornos inmunitarios relacionados con células T
catumaxomab	EpCAM	varios cánceres, tales como cáncer de ovario, ascitis maligna, cáncer gástrico
cetuximab	EGFR	varios cánceres, tales como cáncer colorrectal y cáncer de cabeza y cuello
daclizumab	CD25	cánceres de linaje de células B y trastornos de células T, tales como el rechazo de trasplante de órganos
daratumumab	CD38	cánceres hematológicos, trastornos inmunitarios relacionados con células B y trastornos

		inmunitarios relacionados con células T
dinutuximab	gangliósido GD2	Varios cánceres, tales como cáncer de mama, cánceres mieloides y neuroblastoma
efalizumab	LFA-1 (CD11a)	trastornos autoinmunes, tales como psoriasis
ertumaxomab	HER2/neu	varios cánceres y tumores, tales como cáncer de mama y cáncer colorectal
gemtuzumab	CD33	cáncer mielóide o trastorno inmunitario
ibritumomab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
inotuzumab	CD22	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
ipilimumab	CD152	trastornos relacionados con células T y varios cánceres, tales como leucemia, melanoma
muromonab	CD3	prevención de los rechazos de trasplante de órganos
natalizumab	integrina $\alpha 4$	trastornos autoinmunes, tales como esclerosis múltiple y enfermedad de Crohn
obinutuzumab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
ocaratuzumab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
ocrelizumab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
ofatumumab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
palivizumab	Proteína F del virus sincitial respiratorio	tratar el virus sincitial respiratorio
panitumumab	EGFR	varios cánceres, tales como cáncer colorectal y cáncer de cabeza y cuello
pertuzumab	HER2/neu	varios cánceres y tumores, tales como cáncer de mama y cáncer colorectal
pro 140	CCR5	infección por VIH y trastornos de células T
ramucirumab	VEGFR2	varios cánceres y trastornos relacionados con cáncer, tales como tumores sólidos
rituximab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
tocilizumab o atlizumab	receptor de IL-6	trastornos autoinmunes, tales como artritis reumatoide
tositumomab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
trastuzumab	HER2/neu	varios cánceres y tumores, tales como cáncer de mama y cáncer colorectal
ublituximab	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
vedolizumab	integrina $\alpha 4\beta 7$	trastornos autoinmunes, tales como la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa
scFv(s) de unión a CD20 Geng S et al. Cell Mol Immunol 3: 439-43 (2006); Olafsen T et al. Protein Eng Des Sel 23: 243-9 (2010)	CD20	cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
scFv(s) de unión a CD22 Kawas S et al. MAbs s: 479-86 (2011)	CD22	cánceres de células B o trastornos inmunitarios relacionados con células B
scFv(s) de unión a CD25 Muramatsu H et al., Cancer Lett 225: 225-36 (2005)	CD25	varios cánceres de linaje de células B y trastornos inmunitarios relacionados con células T

anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a CD30 Klimka A et al., Br J Cancer 83: 252-60 (2000)	CD30	cánceres de células B o trastornos inmunitarios relacionados con células B/células T
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a CD33 Benedict C et al., J Immunol Methods 201: 223-31 (1997)	CD33	cáncer mielóide o trastorno inmunitario
dominios de inmunoglobulina de unión a CD38 patente de Estados Unidos 8,153,765	CD38	cánceres hematológicos, trastornos inmunitarios relacionados con células B y trastornos inmunitarios relacionados con células T
scFv (s) de unión a CD40 Eilmark P et al., Immunology 106: 456-63 (2002)	CD40	varios cánceres y trastornos inmunitarios
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a CD52 patente de Estados Unidos 7,910,104 B2	CD52	Cánceres de células B, tales como linfoma y leucemia, y trastornos inmunitarios relacionados con células B, tales como trastornos autoinmunes
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a CD56 Shin J et al., Hybridoma 18: 521-7 (1999)	CD56	trastornos inmunitarios y varios cánceres, tales como cáncer de pulmón, carcinoma de células Merkel, mieloma
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a CD79 Zhang L et al. Ther. Immunol. 2: 191-202 (1995)	CD79	cánceres de células B o trastornos inmunitarios relacionados con células B
scFv(s) de unión a CD248 Zhao A et al., J Immunol Methods 363: 221-32 (2011)	CD248	varios cánceres, tales como angiogénesis inhibidora
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a EpCAM, Schanzer J et al., J Immunother 29: 477-88 (2006)	EpCAM	varios cánceres, tales como cáncer de ovario, ascitos malignos, cáncer gástrico
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a PSMA, Frigerio B et al., Eur J Cancer 49: 2223-32 (2013)	PSMA	cáncer de próstata
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a Eph-B2, Abéngoazar M et al., Blood 119: 4565-76 (2012)	Eph-B2	varios cánceres, tales como cáncer colorrectal y cáncer de próstata
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a endoglina Völkel T et al., Biochim Biophys Res Acta 1663: 158-66 (2004)	Endoglina	varios cánceres, tales como cáncer de mama y cánceres colorrectales
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a FAP Zhang J et al., FASEB J 27: 581-9 (2013)	FAP	varios cánceres, tales como sarcomas y cánceres de hueso
anticuerpo o anticuerpos y scFv de unión a CEA Neumaier M et al., Cancer Res 50: 2128-34 (1990); Pavoni E et al., BMC Cancer 6: 4 (2006); Yazaki P et al., Nucl Med Biol 35: 151-8 (2008); Zhao J et al., Oncol Res 17: 217-22 (2008)	CEA	varios cánceres, tales como cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, cáncer de pulmón y cáncer de mama
anticuerpo o anticuerpos monoclonales de unión a CD24 Kristiansen G et al., Lab Invest 90: 1102-16 (2010))	CD24	varios cánceres, tales como cáncer de vejiga
scFv de unión a antígenos de Lewis Y, Power B et al., Protein Sci 12: 734-47 (2003); monoclonal antibody BR96 Feridani A et al., Cytometry 71: 361-70 (2007)	antígenos de Lewis Y	varios cánceres, tales como cáncer de cuello de útero y cáncer uterino
adalimumab	TNF- α	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales

		como artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis en placas, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, artritis idiopática juvenil, enfermedad hemolítica del recién nacido
afelimomab	TNF- α	varios cánceres y trastornos inmunitarios
ald518	IL-6	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como artritis reumatoide
anrukinzumab o ima-638	IL-13	varios cánceres y trastornos inmunitarios
briakinumab	IL-12, IL-23	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como psoriasis, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino esclerosis múltiple
brodalumab	IL-17	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como enfermedades inflamatorias
canakinumab	IL-1	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como artritis reumatoide
certolizumab	TNF- α	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como enfermedad de Crohn
fezakinumab	IL-22	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como artritis reumatoide, psoriasis
ganitumab	IGF-I	varios cánceres
golimumab	TNF- α	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como artritis reumatoide, artritis psoriática, espondilitis anquilosante
infliximab	TNF- α	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriática, psoriasis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa
ixekizumab	IL-17A	varios cánceres y trastornos inmunitarios, tales como enfermedades autoinmunes
mepolizumab	IL-5	varios trastornos inmunitarios y cánceres, tales como cánceres de células B

Lista de secuencias	Descripción del texto	Secuencia biológica
Número ID SEQ ID NO 1	Subunidad A de toxina 1 similar a Shiga (SLT-1A)	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGDNLFAVD VRGIDPEEGRENRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT AVTLSDGSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAALILNCHHHASRVARMASDEF PSMCPADGRVGRGITHINKILWDSSTLGAILMRRRTISS</p>
SEQ ID NO 2	Subunidad A de toxina Shiga (StxA)	<p>RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAALILNCHHHASRVARMASDEF PSMCPADGRVGRGITHINKILWDSSTLGAILMRRRTISS KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGTGDNLFAVD VRGIDPEEGRENRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT AVTLSDGSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV DEFTVDFSSQKSYVDSLNSHRSASITPLGNISOGGSVSVINHVLGGNYISLN VRGLDPYSERFNHLRLMEERNLYVAGFINTETINIFYRFSDFSHSVDPVITV SMTTDSYSSLQRIADLERGTGMQIGRHSLVGSYLDLMEFRGRSMTRASSRA MLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEEGVRIGRISFNLSAILGSAALILNCHHSTGYSVRSVSQKQKTECQ IVGDRAAIKVNVLWEANTHAALLNRKPODLTEPNO</p>
SEQ ID NO 3	Subunidad A de toxina 2 similar a Shiga (SLT-2A)	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGTGDNLFAVD VRGIDPEEGRENRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT AVTLSDGSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAALILNCHHHASRVAR</p>
SEQ ID NO 4	Subunidad A de subtipo c de toxina Shiga (Stx1cA)	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGTGDNLFAVD VRGIDPEEGRENRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT AVTLSDGSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAALILNCHHHASRVAR</p>
SEQ ID NO 5	Subunidad A de subtipo d de toxina Shiga (Stx1dA)	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGTGDNLFAVD IMGLEPEEERFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTR AVTLSDGSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSYSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAALILNCHHHASRVAR</p>
SEQ ID NO 6	Subunidad A de subtipo e de toxina Shiga (Stx1eA)	<p>QDFTVDFSTAKTYVDSLNAIRSAIGTPLHSSGGTSLLMIDNGTGDNLFAV DIRGLDPEEERFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTRA VTLSDGSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSYSGSLTQPVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAALILNCHHHASRVAR</p>
SEQ ID NO 7	Subunidad A de subtipo 2c de toxina Shiga (Stx2cA) variante 1	<p>REFTIDFSTQOSYVSSLNSIRTEISPLEHISQGTTSVINHTPPGSYFAVDIR GLDVYQAREDFHLRHEQNNLYVAGFVNTATNTFYRESDFTHISVPGVTVS MITDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLVSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEEDGVVRGRISFNNSAILGTVAALILNCHHOGARSVR</p>

SEQ ID NO 8	Subunidad A de subtipo 2c de toxina Shiga (Stx2cA) variante 2	REFIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDVYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFAHISVPGVTTV SMTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR REFIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDIYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFHISVPGVTTVS MTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 9	Subunidad A de subtipo 2c de toxina Shiga (Stx2cA) variante 3	REFIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDIYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFHISVPGVTTVS MTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 10	Subunidad A de subtipo 2c de toxina Shiga (Stx2cA) variante 4	REFIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDVYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFHISVPGVTTVS MTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 11	Subunidad A de subtipo 2c de toxina Shiga (Stx2cA) variante 5	REFIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDVYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFHISVPGVTTVS MTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 12	Subunidad A de subtipo 2c de toxina Shiga (Stx2cA) variante 6	REFIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDVYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFHISVPGVTTVS MTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 13	Subunidad A de subtipo 2d de toxina Shiga (Stx2dA) variante 1	REFMIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDVYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFAHISVPGVTTV SMTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV IPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 14	Subunidad A de subtipo 2d de toxina Shiga (Stx2dA) variante 2	REFMIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDVYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFHISVPGVTTVS MTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 15	Subunidad A de subtipo 2d de toxina Shiga (Stx2dA) variante 3	REFIDFSTQQSYVSSLNSIRTEISIPLEHISQGTTSVSVINHHTPPGSGYFAVDIR GLDVYQARFDHLRLHIEQNLLYVAGFVNTATNTFYRFSDFHISVPGVTTVS MTDSSYTTLQORVAALERSGMOISRHSLSYSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIREFRQALSETAPVYTMTPGDVDLTLNWGRISNV IPEYRGEDGVRVGRISFNNSAILGTVAVILNCHHQGARSVR

SEQ ID NO 16	Subunidad A de subtipo 2e de toxina Shiga (Stx2eA) variante 1	QEFTIDFSTQSQSYVSSLNSIRTAISTPLEHISQGATSVSVINHTPPGYSISVGIR GLDVYQERFDHLRLJBIERNNLVYAGFVNTTNTFYRFSDFAHIESLPGVTTIS MTTDSSTTLQQRVAALERSGMQISRHSLVSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIQREFRLALSETAPVYTMTPEDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEAGVRVGRISFNISAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 17	Subunidad A de subtipo 2e de toxina Shiga (Stx2eA) variante 2	QEFTIDFSTQSQSYVSSLNSIRTAISTPLEHISQGATSVSVINHTPPGYSISVGIR GLDVYQAHFDHLRLJIEQNLYVAGFVNTAINTFYRFSDFAHIESLPGVTTIS MTTDSSTTLQQRVAALERSGMQISRHSLVSSYLALMEFSGNTMTRDASRA VLRFTVTAELRFRQIQREFRQALSETAPVYTMTPEDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEAGVRVGRISFNISAILGTVAVILNCHHQGARSVR
SEQ ID NO 18	Subunidad A de subtipo 2f de toxina Shiga (Stx2fA) variante 1	DEFTVDFSSQKSYVDSLNSIRSAISTPLGNISQGGVSVSVINHPGGNYISLN VRGLDPYSERFNHLRLJMERNNLYVAGFENTENTFYRFSDFSHISVPDVTV SMTTDSYSSLQRIADLERTGMQIGRHSLVGSYLDLMEFRGRSMTRASRA MLRFVTVIAELRFRQIQREFRQALSEASPLYTMTAQDVDLTLNWGRISNV LPEYRGEAGVRVGRISFNISAILGTVAVILNCHSTGYSYSVR
SEQ ID NO 19	Epítipo C1 de células T	VTEHDTLLY
SEQ ID NO 20	Epítipo C1-2 de células T	GLDRNSGNY
SEQ ID NO 21	Epítipo C2 de células T	NLVPMAVTV
SEQ ID NO 22	Epítipo C3 de células T	GVMTRGRLK
SEQ ID NO 23	Epítipo C24 de células T	VYALPLKML
SEQ ID NO 24	Epítipo C24-2 de células T	QYDPVAALF
SEQ ID NO 25	Epítipo F2 de células T	GILGFVFTL
SEQ ID NO 26	Epítipo F3 de células T	ILRGSVAHK
SEQ ID NO 27	Epítipo E2 de células T	CLGGLTMV
SEQ ID NO 28	Epítipo-polipéptido (C2) ₃ de células T	NLVPMAVTVRRNLVPMVATVRRNLVPMVATV
SEQ ID NO 29	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-FR	AEEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTISLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLJIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIQREFRQALSEASPLYTMTAQDVDLTLNWGRIL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFSGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 30	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-1	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTISLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLJIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIQREFRQALSEASPLYTMTAQDVDLTLNWGRIL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFSGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 31	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-2	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTISLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLJIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIQREFRQALSEASPLYTMTAQDVDLTLNWGRIL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFSGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA

SEQ ID NO 32	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-3	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSAAR AMLRFVTVTADALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 33	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-4	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVD VRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTADALRFRQIQRGFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 34	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-FR inactiva	AETLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVAR AMLRFVTVTADALRFRQIQRGFRTLLDDL SGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 35	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-1 inactiva	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTADALRFRQIQRGFRTLLDDL S GASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 36	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-2 inactiva	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTADALRFRQIQRGFRTLLDDL S GASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 37	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-3 inactiva	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSAAR AMLRFVTVTADALRFRQIQRGFRTLLDDL S GASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 38	Polipéptido efector de toxina Shiga SLT-1A-DI-4 inactiva	KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVD VRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTADALRFRQIQRGFRTLLDDL SGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA
SEQ ID NO 39	Cadena ligera ABR1	QDISNYLA
SEQ ID NO 40	Cadena ligera ABR2	LLIYVTSILHS
SEQ ID NO 41	Cadena ligera ABR3	QQGNTLPW
SEQ ID NO 42	Cadena pesada ABR1	YFTSYWLH

SEQ ID NO 43	Cadena pesada ABR2	WIGYINPRNDYTEY
SEQ ID NO 44	Cadena pesada ABR3	RRDITTFY
SEQ ID NO 45	Cadena ligera ABR1	QSVLYSANHKNYLA
SEQ ID NO 46	Cadena ligera ABR2	LLIYWASTRES
SEQ ID NO 47	Cadena ligera ABR3	HQYLISSW
SEQ ID NO 48	Cadena pesada ABR1	YEFSRSWMN
SEQ ID NO 49	Cadena pesada ABR2	WVGRIYPGGDNTNYSQKF
SEQ ID NO 50	Cadena pesada ABR3	RDGSSWDWYFDV
SEQ ID NO 51	Cadena ligera ABR1	QSIVHSVGNITFLE
SEQ ID NO 52	Cadena ligera ABR2	LLIYKVSNRFS
SEQ ID NO 53	Cadena ligera ABR3	FQGSQFPY
SEQ ID NO 54	Cadena pesada CDR1	GYRFTNYWIH
SEQ ID NO 55	Cadena pesada CDR2	GINPGNNYATYRRKFFQG
SEQ ID NO 56	Cadena pesada CDR3	EGYGYGAWFAY
SEQ ID NO 57	Cadena ligera CDR1	RSSQSLANSYGNITFLS
SEQ ID NO 58	Cadena ligera CDR2	GISNRFS
SEQ ID NO 59	Cadena ligera CDR3	LOGTHQPYT
SEQ ID NO 60	Cadena pesada CDR1	GFAFSYDMS
SEQ ID NO 61	Cadena pesada CDR2	YISSGGGTTYYPDTVKG
SEQ ID NO 62	Cadena pesada CDR3	HSGYGTHWGVLFAY
SEQ ID NO 63	Cadena ligera CDR1	RASQDISNYLA
SEQ ID NO 64	Cadena ligera CDR2	YTSILHS
SEQ ID NO 65	Cadena ligera CDR3	QQGNTLPWT
SEQ ID NO 66	Cadena pesada CDR1	GYTFIDYYIT
SEQ ID NO 67	Cadena pesada CDR2	WIYPGSGNTKYNEKF
SEQ ID NO 68	Cadena pesada CDR3	YGNYWFAY
SEQ ID NO 69	Cadena ligera CDR1	KASQSVDFDGDSYMN
SEQ ID NO 70	Cadena ligera CDR2	AASNLES
SEQ ID NO 71	Cadena ligera CDR3	QQSNEDPWT
SEQ ID NO 72	Cadena pesada CDR1	YTFITYWMH
SEQ ID NO 73	Cadena pesada CDR2	WIGYINPSTGYTDY
SEQ ID NO 74	Cadena pesada CDR3	TRRGPSYGNHGAWFPY
SEQ ID NO 75	Cadena ligera CDR1	ENVDTYVS
SEQ ID NO 76	Cadena ligera CDR2	LLIYGASNRYT
SEQ ID NO 77	Cadena ligera CDR3	GQSYRYPP
SEQ ID NO 78	Cadena pesada CDR1	GYFTGYMMH
SEQ ID NO 79	Cadena pesada CDR2	WIDPNSGATTYAQKF
SEQ ID NO 80	Cadena pesada CDR3	KTQTWGFPP
SEQ ID NO 81	Cadena ligera CDR1	RASQGVYQWLA
SEQ ID NO 82	Cadena ligera CDR2	KASHLYN
SEQ ID NO 83	Cadena ligera CDR3	QQLNSYPLT
SEQ ID NO 84	Cadena pesada CDR1	GYTFIDYMMH
SEQ ID NO 85	Cadena pesada CDR2	WIGYINPNTAYTDY

SEQ ID NO 86	Cadena ligera CDR1	KASENVDSFVS
SEQ ID NO 87	Cadena ligera CDR2	GASNRYT
SEQ ID NO 88	Cadena ligera CDR3	GQNYRYPLT
SEQ ID NO 89	Cadena pesada ABR1	FSLISYGVH
SEQ ID NO 90	Cadena pesada ABR2	WLGVIWRGGSTDY
SEQ ID NO 91	Cadena pesada ABR3	KTLLTTGYAMDY
SEQ ID NO 92	Cadena ligera ABR1	EDIYNRLA
SEQ ID NO 93	Cadena ligera ABR2	LLISGATSLETG
SEQ ID NO 94	Cadena ligera ABR3	QQYWSTP
SEQ ID NO 95	Cadena pesada ABR1	FTFNSFAMS
SEQ ID NO 96	Cadena pesada ABR2	WVSAISGSGGGTTY
SEQ ID NO 97	Cadena pesada ABR3	KDKILWFGEVPFDY
SEQ ID NO 98	Cadena ligera ABR1	QSVSSYLA
SEQ ID NO 99	Cadena ligera ABR2	LLIYDASN RAT
SEQ ID NO 100	Cadena ligera ABR3	QQRSNWPP
SEQ ID NO 101	Cadena pesada ABR1	FSLTSYGVH
SEQ ID NO 102	Cadena pesada ABR2	WIGVMWRGGSTDY
SEQ ID NO 103	Cadena pesada ABR3	KSMITTFVMD S
SEQ ID NO 104	Cadena ligera ABR1	EDIYNRLT
SEQ ID NO 105	Cadena ligera ABR2	LLISGATSLET
SEQ ID NO 106	Cadena ligera ABR3	QQYWSNPY
SEQ ID NO 107	Cadena pesada ABR1	FD FSRSWMN
SEQ ID NO 108	Cadena pesada ABR2	WIG E INPDSSTINY
SEQ ID NO 109	Cadena pesada ABR3	RYGNWF PY
SEQ ID NO 110	Cadena ligera ABR1	QNVDTNVA
SEQ ID NO 111	Cadena ligera ABR2	ALIYSASYRYS
SEQ ID NO 112	Cadena ligera ABR3	QQYDSYPL
SEQ ID NO 113	Cadena pesada ABR1	GTFSSYAFS
SEQ ID NO 114	Cadena pesada ABR2	WMGRVIPFLGIANS
SEQ ID NO 115	Cadena pesada ABR3	RDDIAALGPFDY
SEQ ID NO 116	Cadena ligera ABR1	QGISSWLA
SEQ ID NO 117	Cadena ligera ABR2	SLIYAASSLQS
SEQ ID NO 118	Cadena ligera ABR3	QQYNSYPR
SEQ ID NO 119	Cadena pesada ABR1	YTFTDYWMQ
SEQ ID NO 120	Cadena pesada ABR2	WIGTYPGDGD TGY
SEQ ID NO 121	Cadena pesada ABR3	RGDY YGNSLDY
SEQ ID NO 122	Cadena ligera ABR1	QDVSTWA
SEQ ID NO 123	Cadena ligera ABR2	RLIYSASYRYI
SEQ ID NO 124	Cadena ligera ABR3	QQHYSPPY
SEQ ID NO 125	Cadena pesada CDR1	GFSLTSYGVH
SEQ ID NO 126	Cadena pesada CDR2	VMWRGGSTDYNAAFMS
SEQ ID NO 127	Cadena pesada CDR3	SMITTFVMD S
SEQ ID NO 128	Cadena ligera CDR1	KASEDIYNRLT

SEQ ID NO 129	Cadena ligera CDR2	GATSLET
SEQ ID NO 130	Cadena ligera CDR3	QQYWSNPYT
SEQ ID NO 131	Cadena pesada CDR1	GFSLISYGVH
SEQ ID NO 132	Cadena pesada CDR2	VWRGGSTDYNAAFMS
SEQ ID NO 133	Cadena pesada CDR3	TLITTGAMDY
SEQ ID NO 134	Cadena ligera CDR1	KASEDIYNRLA
SEQ ID NO 135	Cadena ligera CDR2	GATSLET
SEQ ID NO 136	Cadena ligera CDR3	QQYWSIPT
SEQ ID NO 137	Cadena pesada CDR1	GDFRSRSMWN
SEQ ID NO 138	Cadena pesada CDR2	EINPDSSTINYTTSLKD
SEQ ID NO 139	Cadena pesada CDR3	YGNWFFPY
SEQ ID NO 140	Cadena ligera CDR1	KASQNVDTNVA
SEQ ID NO 141	Cadena ligera CDR2	SASYRYS
SEQ ID NO 142	Cadena ligera CDR3	QQYDSYPLT
SEQ ID NO 143	Cadena pesada ABR1	FDFSRYWMS
SEQ ID NO 144	Cadena pesada ABR2	WIGEINPTSSSTINF
SEQ ID NO 145	Cadena pesada ABR3	RGNYRYRGDAMDY
SEQ ID NO 146	Cadena ligera ABR1	KSVSTSGYSYLH
SEQ ID NO 147	Cadena ligera ABR2	LLIYLASNLES
SEQ ID NO 148	Cadena ligera ABR3	QHSRELPF
SEQ ID NO 149	Cadena pesada ABR1	STFTTYWIH
SEQ ID NO 150	Cadena pesada ABR2	WIGYINPNTGYTEY
SEQ ID NO 151	Cadena pesada ABR3	VRFITWGG
SEQ ID NO 152	Cadena ligera ABR1	SSVSSSHLH
SEQ ID NO 153	Cadena ligera ABR2	LWIYSTSNLAS
SEQ ID NO 154	Cadena ligera ABR3	HQYHRSP
SEQ ID NO 155	Cadena pesada ABR1	FSLTTYGIGVG
SEQ ID NO 156	Cadena pesada ABR2	WLTHIWMNDNKYY
SEQ ID NO 157	Cadena pesada ABR3	YGYTY
SEQ ID NO 158	Cadena ligera ABR1	QSLLYSNGINTYLLH
SEQ ID NO 159	Cadena ligera ABR2	LLIYKLSNRF
SEQ ID NO 160	Cadena ligera ABR3	SQSTHVPW
SEQ ID NO 161	Cadena pesada ABR1	FNIKDTYIH
SEQ ID NO 162	Cadena pesada ABR2	WVARIYPTNGYTRY
SEQ ID NO 163	Cadena pesada ABR3	RWGGDGFYAMDY
SEQ ID NO 164	Cadena ligera ABR1	QDVNTAVA
SEQ ID NO 165	Cadena ligera ABR2	LLIYSASF
SEQ ID NO 166	Cadena ligera ABR3	QQHYTTPP
SEQ ID NO 167	Cadena pesada ABR3	RWGGDGFYAMDV
SEQ ID NO 168	Cadena pesada ABR1	YSFTSYWIA
SEQ ID NO 169	Cadena pesada ABR2	YMGLIYPGDSDTKY
SEQ ID NO 170	Cadena pesada ABR3	RHDVGYCSSSNCAKWPYFQH
SEQ ID NO 171	Cadena ligera ABR1	SSNIGNNYVS

SEQ ID NO 172	Cadena ligera ABR2	LLYGHTRRPA
SEQ ID NO 173	Cadena ligera ABR3	AAWDDSLSGW
SEQ ID NO 174	Cadena pesada ABR1	YPTINYGMIN
SEQ ID NO 175	Cadena pesada ABR2	WMGWINTSTGESTF
SEQ ID NO 176	Cadena pesada ABR3	RWEVYHGYPY
SEQ ID NO 177	Cadena ligera ABR1	QDVYNAVA
SEQ ID NO 178	Cadena ligera ABR2	LLIYSASSRYT
SEQ ID NO 179	Cadena ligera ABR3	QQHFRTPF
SEQ ID NO 180	Cadena pesada ABR1	ITFSINTMG
SEQ ID NO 181	Cadena pesada ABR2	LVALISSIGDYYA
SEQ ID NO 182	Cadena pesada ABR3	KFRRTAAQGTDY
SEQ ID NO 183	Cadena pesada CDR1	GFNIKDTYIH
SEQ ID NO 184	Cadena pesada CDR2	RIYPTNGYTRYADSVKVG
SEQ ID NO 185	Cadena pesada CDR3	WGGDGFYAMDY
SEQ ID NO 186	Cadena ligera CDR1	RASQDVNTAVA
SEQ ID NO 187	Cadena ligera CDR2	SASFLYS
SEQ ID NO 188	Cadena ligera CDR3	QQHYTTPT
SEQ ID NO 189	Cadena pesada CDR1	GFNIKDTYIH
SEQ ID NO 190	Cadena pesada CDR2	RIYPTNGYTRYADSVKVG
SEQ ID NO 191	Cadena pesada CDR3	WGGDGFYAMDV
SEQ ID NO 192	Cadena ligera CDR1	RASQDVNTAVA
SEQ ID NO 193	Cadena ligera CDR2	SASFLYS
SEQ ID NO 194	Cadena ligera CDR3	QQHYTTPT
SEQ ID NO 195	Cadena pesada CDR1	GYSFTSYWIA
SEQ ID NO 196	Cadena pesada CDR2	LIYPGDSDTKYSPSQG
SEQ ID NO 197	Cadena pesada CDR3	HDVGYCSSSNCAKWPEYFQH
SEQ ID NO 198	Cadena ligera CDR1	SGSSSNIGNNYVS
SEQ ID NO 199	Cadena ligera CDR2	GHTNRPA
SEQ ID NO 200	Cadena ligera CDR3	AAWDDSLSGW
SEQ ID NO 201	Cadena pesada CDR1	GITFSINTMG
SEQ ID NO 202	Cadena pesada CDR2	LISIGDYYADSVKVG
SEQ ID NO 203	Cadena pesada CDR3	FRTAAQGTDY
SEQ ID NO 204	Cadena pesada ABR1	FTFSDSWIH
SEQ ID NO 205	Cadena pesada ABR2	WVAWISPYGGSTYY
SEQ ID NO 206	Cadena pesada ABR3	RRHWPGGFDY
SEQ ID NO 207	Cadena ligera ABR1	QDVSTAVA
SEQ ID NO 208	Cadena ligera ABR2	LLIYSASFLYS
SEQ ID NO 209	Cadena ligera ABR3	QQLYHHPA
SEQ ID NO 210	Cadena pesada ABR1	YTFTSYVMH
SEQ ID NO 211	Cadena pesada ABR2	WIGYVNFNDGTTY
SEQ ID NO 212	Cadena pesada ABR3	RQAWGYP
SEQ ID NO 213	Cadena ligera ABR1	ESVEYGTSLVQ
SEQ ID NO 214	Cadena ligera ABR2	LLIYAASSVDS

<p>SEQ ID NO 253</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo SLT-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactiva</p>	<p>RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKPST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETIGVPSRFSGSGCIDFTFISSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRPSQILSLTCTVSGFSLTSYGV HWVRRQPPGRGLEWVGMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMSWGQGLVTVSSNLVPMVATV MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTADALRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNW GRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFK PSTPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVRRQ APGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARRHWPGGFDYWGQCITLVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGG SGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAP KLLIYASAEFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPAT FQGGTKVEIKNLVPMVATVRRNLVPMVATVRRNLVPMVATV MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAY DILGDFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGT AVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTADALRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPS TPFGSSGGAPDIVLTQSPASLA VSLCQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQ QKPGQPKLLIYAASSVDSGVPAFSGSGTDFSLTHPVEEDDIAMVFCQ QRRRVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQSGPELVKPGASVKMSCKASGY TFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGDKYNEMFKGKATLTSKSS STAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTILVTVSANLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 254</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva</p>	<p>RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKPST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETIGVPSRFSGSGCIDFTFISSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRPSQILSLTCTVSGFSLTSYGV HWVRRQPPGRGLEWVGMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMSWGQGLVTVSSNLVPMVATV MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTADALRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNW GRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFK PSTPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVRRQ APGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARRHWPGGFDYWGQCITLVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGG SGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAP KLLIYASAEFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPAT FQGGTKVEIKNLVPMVATVRRNLVPMVATVRRNLVPMVATV MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAY DILGDFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGT AVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTADALRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPS TPFGSSGGAPDIVLTQSPASLA VSLCQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQ QKPGQPKLLIYAASSVDSGVPAFSGSGTDFSLTHPVEEDDIAMVFCQ QRRRVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQSGPELVKPGASVKMSCKASGY TFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGDKYNEMFKGKATLTSKSS STAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTILVTVSANLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 255	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo SLT-1A-DI-1::scFv8::C2	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGDQSVR VGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFPPST PPGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQ KPGQPPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGTDFSLTIHPVEEDDIAMFYFCQQ SRRVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMCKASGYT FTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGTYKYNEMFKGKATLTSKSSS TAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLVTVSANLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 256	Molécula de reconocimiento de células de referencia 29	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR RLSSVLPDYHGDQSVR VGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFPPKPS TPPGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQ QKPGQPPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGTDFSLTIHPVEEDDIAMFYFCQ QRRVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMCKASGY TFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGTYKYNEMFKGKATLTSKSSS STAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLVTVSA</p>
SEQ ID NO 257	Molécula de reconocimiento de células de referencia 28	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGDQSVR VGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFPPST PPGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQ KPGQPPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGTDFSLTIHPVEEDDIAMFYFCQQ SRRVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMCKASGYT FTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGTYKYNEMFKGKATLTSKSSS TAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLVTVSA</p>
SEQ ID NO 258	Molécula de reconocimiento de células de referencia SLT-1A-DI-FR::scFvI	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT</p>

<p>SEQ ID NO 259</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 1 C1::SLT-1A::scFv1</p>	<p>AVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRVFTVTAELRFRQIQRGFRITLDDL SGRSYVMTAEDVDL TLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFSGGSGTDFTTISSLQPEDIAIYYCQQYWSNP YTFQOQTKVEIKGGGQVQLQESCPGLVRPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSA</p>
<p>SEQ ID NO 260</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 2 C1-2::SLT-1A::scFv1</p>	<p>MVTEHDTLLYKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDL SGRSYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGGSGTDFTTISSLQPEDIAIYY CQQYWSNPYTFQOQTKVEIKGGGQVQLQESCPGLVRPSQTL SLTCTVSGF SLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKQV SLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 260</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 2 C1-2::SLT-1A::scFv1</p>	<p>MGLDRNSGNYKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNVFYRFAD DSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDL SGRSYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGGSGTDFTTISSLQPEDIAIYY CQQYWSNPYTFQOQTKVEIKGGGQVQLQESCPGLVRPSQTL SLTCTVSGF SLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKQV SLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>

SEQ ID NO 261	Molécula de reconocimiento de células 3 C3::SLT-1A::scFv1	<p>MGVMTGRRLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSCRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASA VAAEFPKPSPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFITFISSLQPEDIAIYY CQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRPSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNOVSLRLLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS�VTVSS</p>
SEQ ID NO 262	Molécula de reconocimiento de células 4 C24::SLT-1A::scFv1	<p>MVYALPLKMLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFA DFHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSCRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASA VAAEFPKPSPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFITFISSLQPEDIAIYY CQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRPSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNOVSLRLLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS�VTVSS</p>
SEQ ID NO 263	Molécula de reconocimiento de células 5 SLT-1A::scFv1::C1	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSCRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASA VAAEFPKPS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFITFISSLQPEDIAIYYCQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS�VTVSSVTEHDTLLY</p>
SEQ ID NO 264	Molécula de reconocimiento de células 6 SLT-1A::scFv1::C24-2	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGT</p>

<p>SEQ ID NO 265</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 7 SLT-1A::scFv1::E2</p>	<p>TA VTLSGDSSY TILQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTILDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALINSHHHA SAAEFFPKPS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFGSGGTDFTFTISSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLS SVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSQYDPVAALF MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFENLRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGT TA VTLSGDSSY TILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTILDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALINSHHHA SAAEFFPKPS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFGSGGTDFTFTISSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLS SVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSCLGGLLTMV</p>
<p>SEQ ID NO 266</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 8 SLT-1A::scFv1::F3</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFENLRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGT TA VTLSGDSSY TILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTILDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALINSHHHA SAAEFFPKPS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFGSGGTDFTFTISSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLS SVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSILRGSVAHK</p>

<p>SEQ ID NO 267</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 9 C2::SLT-1A::scFv2</p>	<p>MNLVPMVAVTKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNPFYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVAELFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSVPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAEFKPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRL TWYQQKPKAPKLLISGATSLFTGVPFRSFGSGGIDFTTSSLQPEDIATY YCOQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGKPGSGEGTKGQVQLQESGPG VRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQ GSLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 268</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 10 C2::SLT-1A::scFv2 inactiva</p>	<p>MNLVPMVAVTKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNPFYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVAELFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSVPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAEFKPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRL TWYQQKPKAPKLLISGATSLFTGVPFRSFGSGGIDFTTSSLQPEDIAT YCOQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGKPGSGEGTKGQVQLQESGPG LVRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWG QGSLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 269</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 11 SLT-1A::scFv2::C2</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNPFYRFAFESHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVAELFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAEFKPK STPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQKPK KAPKLLISGATSLFTGVPFRSFGSGGIDFTTSSLQPEDIATYCOQYWSN PYTFGQGTKVEIKGSTSGKPGSGEGTKGQVQLQESGPGVVRPSQTLST CTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQSLVTVSS NLVPMVAVT</p>

<p>SEQ ID NO 270</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 12 SLT-1A::scFv2::C2 inactiva</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNVFYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARMLRFVTVADALRFRQIQRFRTLLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNW GRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAJLNCHHHAASA AAEFPK PSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPFRSFGSGTDFTFTISSLQPEDIATYCCQYWS NPYTFGQGTIKVEIKGSTSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLVRPSTLS LTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNI TKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS�VTVSS NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 271</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 13 F2::SLT-1A::scFv2</p>	<p>MGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAVDVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRFRTLLDDLGRSYVMTAED VDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAJLNCHHHA AVAAEFKPSPTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASEDIYNRL TWYQQKPCKAPKLLISGATSLETGVPFRSFGSGTDFTFTISSLQPEDIATY YCCQYWSNPYTFGQGTIKVEIKGSTSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLV VRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNA AFMSRLNIHKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ GS�VTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 272</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 14 scFv3::F2::SLT-1A</p>	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGSTSGSNPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIK DTYIHVWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGGQGLTVTSSEFPKPSIPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRFRTLLDDLGRSYV MTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAJLNCH HHASRVAR</p>

<p>SEQ ID NO 273</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 15 scFv4::F2::SLT-1^a</p>	<p>MQVQLQQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYTFISYNVHVVWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLADKSSSTVYMQLSLTSSEDAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVWGAGITTVSSGSTSGKPGSGEQIVLSQSPTILS ASPGKVTMTRASSSVYMDWYQQKPKPWIYATSNLASGVPARFS GSGSGTSLTISRVEAEDAATYYCQWISNPPTFGAGTKLEKFPKSTP PGSSGAPGILGFVTLKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSSYL DLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYV MTAEDVDLILNWGRLESSLVDPYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVSVALILNC HHASRVAR</p>
<p>SEQ ID NO 274</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 16 SLT-1A::scFvS::C2</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSSYLLDMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLILNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVSVALILNCHHHAASVAAEFKPK STPPSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVNTAVAWYQQKP GKAPNLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLPQEDFATYYCQQHYT TPPTFGQGTVEIKGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFENIKDT YIHVVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSNLVPMVAIV MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSSYLLDMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLILNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVSVALILNCHHHAASVAAEFKPK STPPSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVQRQA PGKLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAED TAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGGS GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPK LLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLPQEDFATYYCQQYLYHPATF GQGTVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 275</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 17 SLT-1A::scFv6::F2</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSSYLLDMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLILNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVSVALILNCHHHAASVAAEFKPK STPPSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVQRQA PGKLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAED TAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGGS GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPK LLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLPQEDFATYYCQQYLYHPATF GQGTVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 276</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 18 SLT-1A::scFv6::F2 inactiva</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTADALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNW GRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAEEFKP PSTPPSSGGAPEVOLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQ APKGLEWVAWISPYGGSTYADS VKGRFTSADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARRHWPGGFYWGQGITVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQD VSTAVAWYQOKPKGAP KLLIYASFLYSGVPSRFSGSGGTDFTLTSSLQPEDFATYYCQQYLYHPAT FGQGTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 277</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 19 SLT-1A::scFv7::C2</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAEALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAEEFKP STPPSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQISSWLAWYQOKPE KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDFTLTSSLQPEDFATYYCQQYNSY PYTEGQGTKLEIKGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKKASGYTFTSY DVHWVRQAPGQRLEWGMGLHADTGIKFSQKFGQGRVTHTRDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARERIQLWEDYWGQGITVTVSSNLVPMVAVT</p>
<p>SEQ ID NO 278</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células 20 SLT-1A::scFv1::C2</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAEALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAEEFKP STPPSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEDIYNRLLTWYQOKPG KAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTLTSSLQPEDIATYYCQQYWSN PYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVKRPQSLTCTVSGFSLTSYG VHWVRQPPGRRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRL SSVTAADTAVYYCAKSMITGFVMDSWGQSLVTVSSNLVPMVAVT</p>
<p>SEQ ID NO 279</p>	<p>Polipéptido efector de la toxina Shiga de tipo salvaje (SLT-1A-WT)</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGSGDNLFAVD VRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGT AVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAEALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASRVAR</p>

<p>SEQ ID NO 280</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de referencia 21</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPIQTSSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALLNCHHHASA VAAEFPKP STPPGSSGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPG KAPKLLISGATSLETGVPSPRFGSGGTDFTTSSLOPEDIATYYCQQYWSN PYTFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYG VHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITNDNSKNQVSLRL SSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSlyTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 281</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de referencia 22</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPIQTSSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALLNCHHHASA VAAEFPKP STPPGSSGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPG KAPKLLISGATSLETGVPSPRFGSGGTDFTTSSLOPEDIATYYCQQYWSN PYTFGQGTKVEIKGGSTSGKPGSGEGTKGQVQLQESGPGLVPRPSQTLST CTVSGFSLTSYG VHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSlyTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 282</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de referencia 23</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPIQTSSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG GRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALLNCHHHASA VAAEFPKP STPPGSSGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPG GKAPKLLISGATSLETGVPSPRFGSGGTDFTTSSLOPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKVEIKGGSTSGKPGSGEGTKGQVQLQESGPGLVPRPSQTL LCTVSGFSLTSYG VHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNI TKDNSKNQVSLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSlyTVSS</p>

SEQ ID NO 283	Molécula de reconocimiento de células de referencia 24	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVMTAEDVDLILNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAASAAEFKPK STPPSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQQKQ GKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQHYT TPPTFGQGTKVEIKGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDT YIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTILVTVSS</p>
SEQ ID NO 284	Molécula de reconocimiento de células de referencia 25	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVMTAEDVDLILNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAASAAEFKPK STPPSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFSDSWIHWVRQA PGKLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTILVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPK LLIYASFLYSGVPSRFSGGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQLYHPATF GQGTKVEIK</p>
SEQ ID NO 285	Molécula de reconocimiento de células de referencia 26	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGT TAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVMTAEDVDLILNW GRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAASAAEFKPK STPPSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFSDSWIHWVRQ APKGLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTILVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPK KLLIYASFLYSGVPSRFSGGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQLYHPAT FGQGTKVEIK</p>

<p>SEQ ID NO 286</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de referencia 27</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRENNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLILNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASVAAEFKPK STPPSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQGISSWLAWYQKQPE KAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCQQYNSY PYTFQQTKEIKGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKKASGYTFTSY DVHWVRQAPQRLEWGMWLHADTGIFKFSQKPGQGRVTITRDTASASTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARERIQIOWFDYVWGGGILVTYSS</p>
<p>SEQ ID NO 287</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de referencia 28</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRENNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLILNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASVAAEFKPK STPPSSGGAPGILGFVFTLMQVQLQPGAEVKKPGASVKMSCKTSGYTFT SYNVHWVKQTFQGGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVY MQLSSLTSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSGSGG KPGSGEGSQVLSQSPITLSAPGKVTMTCRASSSVSYMDWYQKPGSSP KPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPP TFGAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 288</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 1</p>	<p>VTEHDLLYAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLFADVILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASV AAEFKPKSTPPSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCRASQGISSWLA WYQKQKPKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTTSSLOPEDFATYY CQQYWSNPYTFQQTKEIKGGGSQVQLQESGPGVLRPSQTLSTCTVTS GFSLTSYGVHWVRQPPQRGLEWIGVWVRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGGGSLVTYSS</p>

<p>SEQ ID NO 289</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 2</p>	<p>GLDRNSGNYAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLF AVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTG FVNRTNNV FRYFADFS HVTFFGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDL SGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQQKPKGKAPKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGTDFFTISSLQPEDIATYY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 290</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 3</p>	<p>GVMTGRGLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLF AVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTG FVNRTNNV FRYFADFS HVTFFGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDL SGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQQKPKGKAPKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGTDFFTISSLQPEDIATYY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 291</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 4</p>	<p>VYALPKMLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLF AVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTG FVNRTNNV FRYFADFS HVTFFGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDL SGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQQKPKGKAPKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGTDFFTISSLQPEDIATYY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>

SEQ ID NO 292	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 5	<p>NLVPMAVTAAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQJRGFRITLDDLGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHASA VAAEFPKSTPPSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQOKPKAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGGTDFTTSSLOPEDIATYY CQYWSNPYTFGQGTKEIKGSTSGSKPGSEGTGKQVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWRVQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNKSNQVSLRSSVTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGG SLVTVSS</p>
SEQ ID NO 293	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 6	<p>GILGFVFLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMDSGI GDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQJRGFRITLDDLGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHASA VAAEFPKSTPPSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQOKPKAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGGTDFTTSSLOPEDIATYY CQYWSNPYTFGQGTKEIKGSTSGSKPGSEGTGKQVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWRVQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNKSNQVSLRSSVTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGG SLVTVS</p>
SEQ ID NO 294	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 7	<p>DIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQKPKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCQHYTTPPTFGQGTKY EIKRTGSTSGSKPGSEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNIKDT YIHWVRAQAPGKGLWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVVYCSRWGGDGFYAMDVWGGQGLVTVSSEFPKSTPPGGS SGGAPGILGFVFLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVY RFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDL MSHSATSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQJRGFRITLDDLGRSYVMT AEDVDLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHH HASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 295</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 8</p>	<p>QVQLQPGAEIVKPGASVKMSCKTSGYFTFTSYNVHWVVKQTGGLEWIG AIYPGNQDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFDYWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPITLSAS PGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISRVAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFKPKSTPPG SSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLVNVRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYF RFADESHVTFPGTTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSATSLTQSVARAMLRFVVTAEALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDQSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHH HASAVAA AEFTLDFSTAKTYVDSLVNVRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYFADFESHVTFPGTTA VTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDQSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGTDFTFTISLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSSVTEHDTLLY</p>
<p>SEQ ID NO 296</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 9</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLVNVRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYFADFESHVTFPGTTA VTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDQSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGTDFTFTISLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSSVTEHDTLLY</p>
<p>SEQ ID NO 297</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 10</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLVNVRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYFADFESHVTFPGTTA VTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDQSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGTDFTFTISLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSSNLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 298	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 11	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLJVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTIA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLSLTSQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPSRFGSGGIDFTFTSSLOPEDIATYYCQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGSVTVSSQYDPAALF AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLJVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTIA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLSLTSQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPSRFGSGGIDFTFTSSLOPEDIATYYCQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGSVTVSSCLGGLLIMV</p>
SEQ ID NO 299	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 12	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLJVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTIA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLSLTSQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPSRFGSGGIDFTFTSSLOPEDIATYYCQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGSVTVSSCLGGLLIMV</p>
SEQ ID NO 300	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 13	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLJVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTIA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLSLTSQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPSRFGSGGIDFTFTSSLOPEDIATYYCQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGSVTVSSILRGSVAHK</p>

<p>SEQ ID NO 301</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 14</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRJTNVNFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLSQSVAR AMLRFVTVTAEALRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPSPFCGSGTDFITISLQPEDIATYCCQYWSNPY TFGQGTKVEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLVRSQTLSTCT VSGFSLTSYGVHWVVRQPPGRGLEWVGMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKD NSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGLVTVSSNLV PMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 302</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 15</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRJTNVNFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLSQSVAR AMLRFVTVTAEALRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPKG APKLLYSASFLYSGVPSRFSGRSGIDFTLTISSLQPEDFATYCCQHYTIP PITFQQGTKVEIKGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFNPKDITY HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ NSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 303</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 16</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRJTNVNFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLSQSVAR AMLRFVTVTAEALRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKPSIP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARRHWPGGFDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPKGAPKLLI YSASELYSGVPSRFSGSGTDFITISLQPEDFATYCCQYLYHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 304</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 17</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGfVNRtNNVfYRFADfSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMETAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRAVTITCRASQGISSWLA WYQQKPEKA PKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGIDFILTISLQPEDEATYTCQYNSYPY TFGQGTKLEIKGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYDV HWVRQAPGQRLEWMGWLHADTGIKFKSQKFGQRVTITRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGTLVTVSSNLYPMVAIV</p>
<p>SEQ ID NO 305</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 18</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGfVNRtNNVfYRFADfSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMETAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRAVTITCRASQGISSWLA WYQQKPEKA PKLLISGATSLGTGVPFRFSGSGGIDFTFTISLQPEDEATYTCQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLV RPSQILSLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNA AFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQSLVTVSSNLYPMVAIV</p>
<p>SEQ ID NO 306</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 19</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGfVNRtNNVfYRFADfSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMETAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFSTYNVHWVKQTP GQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSA VYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTYSSGSTS GSGKPGSGESQIVL SQSPILSASPGKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPKSPKPIWYATSNLAS GVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYTCQYWSNPPFTFGAGTKLELK NLVPMVAIV</p>

SEQ ID NO 307	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 20	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPQVQLVQSGAELVKPGASVKMCKASGYTFTSYNMHWVKQTP GQGLEWIGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYICARAQLRPNYWYFDVWGAGITTVTVSSGGGGSDIVLSQSPAILASAPG EKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYYCQOWISNPPTEGAGTKLELKNLVPMTVATV</p>
SEQ ID NO 308	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 21	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPQVQLVQSGAELVKPGASVKMCKASGYTFTSYNMHWVKQTP GRGLEWIGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYICARSTYYGGDWYFNWVWAGITTVTVSAGTSGSGKPGSGEGSTKGGI VLSQSPAILASAPGEKVTMTCRASSVSYIHWFOQKPGSSPKPWYATSNLA SGVPRFSGSGSTSYSLTISRVEAEDAATYYCQOWISNPPTEGAGTKLELKNLVPMTVATV</p>
SEQ ID NO 309	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 22	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAASGITFSINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAVYY CKRFRFAAQGHIDYWGQGTQVTVSSAHHSEDNLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 310	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 23	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAP RLLISGATSLETGVPSRFSGSGSKDYTLSTISLQTEDVATYYCQQYWSSTPT FGGGTLKLEIKGTSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSORLSITCTVSGFS</p>

<p>SEQ ID NO 311</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 24</p>	<p>LISYGVHWVRQSPGKLEWLGVIWRGGSTDYNA AFMSRLSITKDNSKSKQV FFKMNSLQADDIAIYFCAKTLITTYGAMDYWGQGTITVTVSSNLVPMVAT V AEFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTISLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSAATSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAAHSEDP SSKAPKAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRLCAASGITFSINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYY CKRFRTA AOGTDYWGQGTQVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 312</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 25</p>	<p>AEFILDSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTISLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSAATSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPKSTP PGSSGGAPASVSDVPRDLEVVAATPTSLISWCRCADSYRITYGETCGN SPVQEFTVPGSWKATATISGLKPGVDYITIVYVVTYVYGVWDYRSHPIINR TGSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 313</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 26</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAATPTSLISWCRCADSYRITYGETGGNSPVQEFTV PGSWKATATISGLKPGVDYITIVYVVTYVYGVWDYRSHPIINRITGSEFPKPS TPPSSGGAPAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTISLLMIDSG IGIDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHV TFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSA ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAED VDLTLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAANLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 314</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 27</p>	<p>AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTISLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSAATSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPKSTP PGSSGGAPAPTSSTKTKTQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTKFK YMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISININIVILEL KGSETTFMCEY ADETA TIVEFLNRWITFCQSIISTLTLNLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 315	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 28	<p>NLVPMVAIVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGERTLLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGR.LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAAGGGGGDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLGTGPSRFSGGSGTDFTTISLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKEIKGGGQVQLQESGPGLVPRSQTLSTCTVSGFSLTSY GVHWVROPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVVSS</p>
SEQ ID NO 316	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 29	<p>NLVPMVAIVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGERTLLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGR.LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPSVTPPGSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQNPKGAPKLLISGATSLGTGPSRFSGGSGTDFTTISLQPEDIATYY CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGGTSGSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWVROPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNSKNQVSLR.LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS SVTVVSS</p>
SEQ ID NO 317	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 30	<p>NLVPMVAIVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGERTLLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGR.LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPSVTPPGSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCRASQDVNTAV AWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPTFGQGTKEIKGGGQVQLQESGPGLVPRSQTLSTCTVSGFSLTSY ASGFNIKDTYHHWVROPPGRGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSS</p>

SEQ ID NO 318	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 31	<p>GILGFVTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGI GDNLFADVILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFS HVTFFPGTTAVTILSADSSYTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDL SGRSYVM TAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWI HWVVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGG GSGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASFELYSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQY LYHPATFGQGIKVEIK</p>
SEQ ID NO 319	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 32	<p>NLVPMVATVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDS GIGDNLFADVILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTILSADSSYTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDL SGRSYVM TAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSA VAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQISSWLAWYQQKP EKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNS YPYTFGQGTKLEIKGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTS YDVHWVROAPGQRLEWMGWLHADTGITKFSQKFKQGRVTITRDTSASTAY MELSSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGTLVTVSS</p>
SEQ ID NO 320	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 33	<p>NLVPMVATVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDS GIGDNLFADVILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTILSADSSYTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDL SGRSYVM TAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSA VAAEFKPSPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWI WYQQKPKAPKLLISGATSLTETGVPKSRFSGSGGTDFTTISLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLVESGGGLVRRPSQTLSTLCTVS GFSLTSYGVHWVROAPGQRLEWMGWLHADTGITKFSQKFKQGRVTITRDTSASTAY KNQVSLRLLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGGGSLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 321</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 34</p>	<p>NLVPMVAVTVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPSFPPGSSGGAPOVQLQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSY NVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYM QLSSTSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSGK PGSGEQIVLSQSPTILSAPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKP WYATSNLASGVPARFSGSGTYSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTF GAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 322</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 35</p>	<p>NLVPMVAVTVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAAGGGGGQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVK QTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSE DSAVYYCARAQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGGGGGGGGG GGGGGGSDIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSGSGTYSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNP PTFGAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 323</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 36</p>	<p>APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVFEFLNRWITFCQSIISLTFEFPKPSPPGSSGGAPNLVPMVA TVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVYRFADFSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 324</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 37</p>	<p>GILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQIQRGFRFTLDDLSGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSVPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNP KLTRMLTFKYMFKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDL ISNINVIVLELKGSETFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISLT</p>
<p>SEQ ID NO 325</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 38</p>	<p>MNLVPMVATVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSH SATSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQIQRGFRFTLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSVPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFTFISSLQPEDIAITY CQYWSNPYTFGQGTKEIKGSTSGSGKPGSGEGTKGQVQLQESGPGLV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ SLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 326</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 39</p>	<p>MNLVPMVATVAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSH SATSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQIQRGFRFTLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSVPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFTFISSLQPEDIAITY CQYWSNPYTFGQGTKEIKGSTSGSGKPGSGEGTKGQVQLQESGPGLV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ SLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 327</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 40</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHSASA VAAEFPKPS PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRITWYQOKPKG APKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLV RPSQTLSLT CTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS LVTVSS NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 328</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 41</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHSASA VAAEFPKPS PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRITWYQOKPKG APKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLV RPSQTLSLT CTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS LVTVSS NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 329</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 42</p>	<p>MGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS ATSLTQSVARAMLRFTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHSASA VAAEFPKPSPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRIT WYQOKPKGAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS SLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 330</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 43</p>	<p>MDIQMTQSPSSLASVGDRTTTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFILTISSLQPEDFATYYCQHYTTPFTFGQGT KVEIKRTGSTSGSKPGSEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK DTYIHVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLR.AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGQGITLVTSSEFPKPTPP GSSGGAPGILGFVFLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNVFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MHSASATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVILNLSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 331</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 44</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKKAKLTADKSSSTVYMQLSLTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFEDVWAGTTVTVSSGSTSGSKPGSEGQIVLSQSPITLS ASPGKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASCVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFKPKPTP PGSSGGAPGILGFVFLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNVFY YRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVILNLS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 332</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 45</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVILNLSHHASAVAAEFPKPT PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTTCRASQDVNTAVAWYQQKPKGK APKLLIYSAFLLYSGVPSRFSRSGTDFILTISSLQPEDFATYYCQHYTTP PTFGQGTKEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGQGITLVTSNLSVPMVAVTV</p>

<p>SEQ ID NO 333</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 46</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPEVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTLYTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLYHPATFQQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 334</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 47</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPEVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTLYTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLYHPATFQQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 335</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 48</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPEVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTLYTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQLYHPATFQQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 336</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 49</p>	<p>MAEFFLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTT AVTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AAEFPKPS PPGSSGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPKG APKLLISGATSLETGVPFRSFGSGTDFTTSSLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGGLVRPSQTLSTICTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSIDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSL SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 337</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 50</p>	<p>QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGTSQSGKPGSGEGSIVLSQSPHTLSAS PGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSPKRWIYATSNLASGVPARFSGS GSGTSLTISRVEAEDAATYCYQQWISNPPFTGAGTKLELKEFPKPSPPG SSGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVY RFADFHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDL MHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWGRLLSVPDPYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 338</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 51</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCAR NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGTSQSGKPGSGEGSIVLSQSPHTLS ASPGKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSPKRWIYATSNLASGVPARF SGSGTSLTISRVEAEDAATYCYQQWISNPPFTGAGTKLELKEFPKPS PPGSSGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGT SLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNV YRFADFHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSVPDPYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNS HHASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 339</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 52</p>	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGDRAVTHICRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGSTSGSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIAKVTVDYHWRQAPGKGLVWRVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVGGQTLVTVSSEFPKSTPP GSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNV FVRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 340</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 53</p>	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGDRAVTHICRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGSTSGSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FNIAKVTVDYHWRQAPGKGLVWRVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVGGQTLVTVSSEFPKSTPP GSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNV FVRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 341</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 54</p>	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTHICKASEDYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGTGVPSPRFSGSGGKDYTLTSLQTEDVATYYCQQYWSTPTFGGGTK LEIKGSTSGSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVVRQSPGKGLEWLVGIWRGGSDYNAAFMSRLSITKDNKSKSQVFFKMN SLQADDTAIYFCAKTLITTYAMDYWGQGTITVTVSSEFPKSTPPGSSGGA PGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSG IGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFS HVTTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDV DLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAKDEL</p>

SEQ ID NO 342	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 55	<p>MDIELTQSPSSFVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQKPGNAPRLLISGA TSLEITGVPSRFRSGSGKDYTLISLQIETEDVATYYCQYWSPTFFGGGTK LEIKGSTSGKPGSGEGSKVQLQESGPLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVROSPGKGLWLVWIRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKSQVFFKMN SLQADDTAIFYCAKTLITTYAMDYWGQGTITYVSSEFPKSTPPGSSGGA PGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSG IGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAALILNSHHHASAV AAKDEL</p>
SEQ ID NO 343	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 56	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNNSNGNTLYWFLQRPQGSPQL LIYRMSNLASGVDRFRSGSGGTAFILRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTT FGAGTKLELKGSTSGKPGSGEGSEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKS SSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFF KPSIPGSSGGAPGILGFVFLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIIS SGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTLSSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLT TSYLDLMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSG RSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAL ILNSHHHASAVAANKDEL</p>
SEQ ID NO 344	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 57	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNNSNGNTLYWFLQRPQGSPQL LIYRMSNLASGVDRFRSGSGGTAFILRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPTT FGAGTKLELKGSTSGKPGSGEGSEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKS SSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFF KPSIPGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIIS SGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTLSSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLT TSYLDLMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSG RSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAL ILNSHHHASAVAANKDEL</p>

SEQ ID NO 345	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 58	<p>MDIQLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFAQRPQQSPRL LIYTVSNRFGVDRFSGSGGIDFTLKIISRVEAEDVGVYFCSQSSHVPTFG AGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKQVQLQQSGSELKPGASVKVSCCKAS GYFTFTNYGVNWIQAPGQGLQWMGWINPNTGEPFDDDFKGRFAFSLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRGRKNEAWFAYWGOQGLVTVSSEFPKPS TPGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNN VFYRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSY LDLMHSAATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSY VMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALIILN SHHHASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 346	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 59	<p>MDIQLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFAQRPQQSPRL LIYTVSNRFGVDRFSGSGGIDFTLKIISRVEAEDVGVYFCSQSSHVPTFG AGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKQVQLQQSGSELKPGASVKVSCCKAS GYFTFTNYGVNWIQAPGQGLQWMGWINPNTGEPFDDDFKGRFAFSLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRGRKNEAWFAYWGOQGLVTVSSEFPKPS TPGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNN VFYRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSY LDLMHSAATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSY VMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALIILN SHHHASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 347	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 60	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRIT AAQGTDYWGQGTQVTVSSAHHSEDPSSKAPKAPGILGFVFTLAEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLG RFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTTAVTLSADSS YTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMHSAATSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYH GODSVRVGRISFGSINAILGSVALIILNSHHHASA VAAKDEL</p>

SEQ ID NO 348	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 61	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGHTFSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLG RFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSS YTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVARAMLRFTV TAEALRFRQIQRGFRTTLDLSDGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYH GODSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 349	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 62	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGHTFSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHSEDPSSKAPKAPGILGFVFTLILGILGFVFTL AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTVTAEALRFRQIQRGFRTTLDLSDGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 350	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 63	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGHTFSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDITYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFTLILGILGFVFTL AEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVAR AMLRFTVTVTAEALRFRQIQRGFRTTLDLSDGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 351	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 64	<p>MAPTSSSTKKTKLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLIRMLTFKFMPPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINIVILELKGSEIT FMCEYADETATVEFLNRWITFCQSIISTLTFEPKPTPPGSSGGAPGILGFV TLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGDFDFTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV ARAMLRFTVTVTAEALRFRQIQRGFRTTLDLSDGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 352</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 65</p>	<p>MAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGIINNYKNPKLTRMLTFKPYMPKK ATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVFELNRWITFCQSIISTLTFEPPKSTPPGSSGGAPGILGFVF TLAFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGDFDTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPG TTAVTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAKDEL MQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEW IGAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTLSEDSAVYYCAR AQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGEKVTMTCRASSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSG SSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFKPSTPP GSSGGAPGILGFVTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFDTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVY RFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGRSYVM TAEVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 353</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 66</p>	<p>MAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGIINNYKNPKLTRMLTFKPYMPKK ATELKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVFELNRWITFCQSIISTLTFEPPKSTPPGSSGGAPGILGFVF TLAFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGDFDTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPG TTAVTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAKDEL MQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEW IGAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTLSEDSAVYYCAR AQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGEKVTMTCRASSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSG SSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFKPSTPP GSSGGAPGILGFVTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFDTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVY RFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGRSYVM TAEVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 354</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 67</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFKPSTP PGSSGGAPGILGFVTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNV YRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>

SEQ ID NO 355	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 68	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPILS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLEKLEKPKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 356	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 69	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPILS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLEKLEKPKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 357	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 70	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTFSYNMHWVKQTPGRGLEW IGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR STYYGGDWYFNVWVGAGTTVTSAGSTSGSKPGSGEGSTKGGQIVLSQSPA ILSASPEKVTMTCRASSVSYHWFQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPVRF SSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPFTFGGKLEKLEKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGT SLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNV FYRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYL DLMHSAATSLTQSVARAMLRFVTVAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAA</p>

SEQ ID NO 358	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 71	<p>MEVQLVESGGGLVQPGRSRLSCAASGFTFNDAAMHWVVRQAPGKGLEW VSTISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNLSLAEDTALYYCAK DIQYGNYYGMDVWGQGTITVSSGSTSGSKPGSGEGSEIVLTQSPATLS LSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFS GSGGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPIFGQGRLEIKKPKPSTPP GSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYF RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTILDDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA</p>
SEQ ID NO 359	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 72	<p>MEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRAATGIPARFSGSGGTDFLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPIFGQGT RLEIKGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGVQLVESGGGLVQPGRSRLR SC AASGFTFNDAAMHWVVRQAPGKLEWVSTISWNSGSGIGYADSVKGRFTI SRDNAAKSLYLQMNLSLAEDTALYYCAKDIQYGNYYGMDVWGQGTIV TVSSEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIG TPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYY TGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQ INRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTI LDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINA ILSVALILNSHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 360	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 73	<p>MQIVLSQSPAILSAPGEEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYAP SNLASGVPARFSGSGGTSLTISRVEAEDAATYYCQQWVSNPPTFGAGT KLELKSGGGGGGGGGGGGGGGGGGQAYLQQSGAELVRPGASV KMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPRQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGK ATLTVDKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYFCARVVYSNSYWFYEDVWGTGTT VTVSEFPKPTPPGSSGGILGFVFTLGAPAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAI GTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLY VTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGM QINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFR TTLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSIN AILGSVALILNSHHASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 361</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 74</p>	<p>MQAYLQQSGAELVRPGA SVKMSCASGYTFTSYNMHWVKQTPRQGLEWI GAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAR VVYYSNSYWFYD VWGTGTTVT VSGTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPAILSA SPGEKVMTICRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYAPSNLASGVPARFSG SSGTYSLTI SRVEAEDAATYYCQQWSEFNPTFGAGTNLELKSEFPKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDL SGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 362</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 75</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWCRQCADSYRITYGETGGNSPVQEFV PGSWKATATISGLKPGVDYTTITVYVTHYYGWD RYSHPI SINYRTGSEFPKPS TPPSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNVF VFYRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSY LDLMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDL SGRSY VMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILN SHHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 363</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 76</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFYD VWGTGTTVT VSSGTS GSKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARF S GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKSEFPKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDL SGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNS HHHASAVAACTIGDALVALPEGESVRIADIVPGARPNSDNAIDLKVLDRHG NPVLADRLFHSGEHPVYTVRTVEGLRVGTANHPLLCLVDVAGVPTLLWK LIDEIKPGDYAVIQRSAFSVD CAGFARGKPEFAPTTYTVGV PGLVRFLEAHH RDPDAQAJADELTDGRFYAKVASVTDAGVQPVYSLRVDTADHAFITNGF VSHATGLTGLNSGLTTNPGVSAWQVNTAYTAGQLVTYNGKTYKCLQPH T SLAGWEPSNVPALWQLQ</p>

<p>SEQ ID NO 364</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 77</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASEGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYCCQWISNPPFTGAGTKLELKEFPKPSIP PGSSGGAPGILGFVFTLAFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLEFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVF YRFADFHVTFPGTTAVTILSADSSYTTILQRVAGISRFGMQRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAACITGDALVALPECESVRIADIVPGARPNSDNAIDLKVLDRHG NPVLADRLFHSGEHPVYTVRTVEGLRVTGTANHPLLCLVDVAGVPTILLWK LIDEIKPGDYAVIQRSAFSVDCAFARGKPEEAPTITYTVGVPGLVRFLEAHH RDPDAQAIADDELTDGRFYAKVASVTDAGVQPVYSLRVDTADHAFITNGF VSHATGLTGLNSGLTINPGVSAWQVNTA YTAGQLVTYNGKTYKCLQPHT SLAGWEPSTNPALWQLQ</p>
<p>SEQ ID NO 365</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 78</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASEGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYCCQWISNPPFTGAGTKLELKEFPKPSIP PGSSGGAPGILGFVFTLAFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLEFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVF YRFADFHVTFPGTTAVTILSADSSYTTILQRVAGISRFGMQRHSLTTSYLD LMSHSATSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 366</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 79</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALINSHHHASAVA AAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLMQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSY NVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYVM QLSLLTSEDSAVVYCARSNYYGSSYVWFFDVWVWAGTTVTVSSCGTSVSGSK PGSGEGSQIVLSQPTILSASPGKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKGSSPKP WIYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTF GATKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 367</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 80</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALINSHHHASAVA AAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLDELQSPSSFSVSLGDRVTTCKASEDIYNRLAW YQKPGNAPRLLISGATSLTGVPSRFSGSGKDYTLSTLQIEDVATYY CQYWSPTFFGGTKLEIKGTSVSGSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQR LSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSPGKGLEWLVGIWRGGSTDYNAAFMSRLS ITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIFYCAKTLITITGYAMDYWGQGTITVTVS S</p>
<p>SEQ ID NO 368</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 81</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALINSHHHASAVA AAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLDELQSPSSFSVSLGDRVTTCKASEDIYNRLAW YQKPGNAPRLLISGATSLTGVPSRFSGSGKDYTLSTLQIEDVATYY CQYWSPTFFGGTKLEIKGTSVSGSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQR LSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSPGKGLEWLVGIWRGGSTDYNAAFMSRLS ITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIFYCAKTLITITGYAMDYWGQGTITVTVS S</p>

<p>SEQ ID NO 369</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 82</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFVSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALJNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVA WYQQKPKGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTJISSLQPEDEFATY YQQHYTTPPTFGQGTKEIKRTIGTSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGSLRLSCAAAGFNKDYIHWVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 370</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 83</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFVSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALJNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVA WYQQKPKGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTJISSLQPEDEFATY YQQHYTTPPTFGQGTKEIKRTIGTSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGSLRLSCAAAGFNKDYIHWVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 371</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 84</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFVSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALJNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVMTQAAPSIPVTPGESVSISSCRSSKSLNSNGNT YLYWFLQRPQSPQLIYRMSNLSGVPPDRFSGSGTAFTLRISRVEAED VGVYYCMQHLEYPTFGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGSEVQLQQSGPE LIKPGASVKMCKKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGK YNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFD YWGQGTTLTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 372</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 85</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQNRHSLTTSYLDLMSHSATSLSLQTSVA RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFFKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDIVMTQAAPSPVTPGESV SISRSSKSLNSNGNT YLYWFLQRPQSPQLLYRMSNLAGVDFRFGSGSCTAFTLRISRVEAED VGVYYCMQHLEYPTFGAGTKLELKGSTSGKPGSGEGSEVQLQQSGPE LIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFD YWGQGTLLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 373</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 86</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQNRHSLTTSYLDLMSHSATSLSLQTSVA RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFFKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDQLTQSPLSLPTLGPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFRQRPQSPRLLYTVSNRFGVPPDRFSGSGGIDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPTFGAGTRLEKGTSGKPGSGEGSKQQVLOQSG SELKPGASVKVSKASGYTFTNYGVNWKQAPGQGLQWGMGWINPNTGE PTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRGRKNEAWFA YWGQGTLLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 374</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 87</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQNRHSLTTSYLDLMSHSATSLSLQTSVA RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFFKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDQLTQSPLSLPTLGPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFRQRPQSPRLLYTVSNRFGVPPDRFSGSGGIDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPTFGAGTRLEKGTSGKPGSGEGSKQQVLOQSG SELKPGASVKVSKASGYTFTNYGVNWKQAPGQGLQWGMGWINPNTGE PTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRGRKNEAWFA YWGQGTLLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 375</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 88</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFVSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQGRFTTLDLDSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAHHSE PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAASGHTFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYVYLMQNS LKPEDTAVYYCKRFRATAAQGTDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 376</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 89</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFVSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQGRFTTLDLDSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAASGHTFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYVYLMQNS LKPEDTAVYYCKRFRATAAQGTDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 377</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 90</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFVSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQGRFTTLDLDSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAHHSE PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAASGHTFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYVYLMQNS LKPEDTAVYYCKRFRATAAQGTDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 378</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 91</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFVSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQGRFTTLDLDSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAASGHTFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYVYLMQNS LKPEDTAVYYCKRFRATAAQGTDYWGQGTQVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 379</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 92</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHAASA VAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLASVSDVPRDLEVAATPTSLISWCRQRCADSYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSWKATATISGLKPGVDYTTITVYVYVTHYYGWDR YSHPIISINRYRTGS</p>
<p>SEQ ID NO 380</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 93</p>	<p>MAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSATSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHAASA VAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLASVSDVPRDLEVAATPTSLISWCRQRCADSYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSWKATATISGLKPGVDYTTITVYVYVTHYYGWDR YSHPIISINRYRTGS</p>
<p>SEQ ID NO 381</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 94</p>	<p>VTEHDTLLYKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLFAVDILGDFDLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHAASA AAEFPKPSPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGGTDFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRPSTLSLCTV GFSLTSYGVHVVRRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLLSSVTAADTAVYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVYSS</p>
<p>SEQ ID NO 382</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 95</p>	<p>GLDRNSGNYKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLFAVDILGDFDLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHAASA AAEFPKPSPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGGTDFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRPSTLSLCTV GFSLTSYGVHVVRRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLLSSVTAADTAVYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVYSS</p>

SEQ ID NO 383	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 96	<p>GVMTRGRIKEFILDFAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTHSSGGTSLLMIDSGI GDNLFVAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIQRFRTLLDDLSGASVYMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQOKPKGAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGSDTFTTSSLOPEDIAITY CQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGVLRPSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVVSS</p>
SEQ ID NO 384	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 97	<p>VYALPKMLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTHSSGGTSLLMIDSG IGDNLFVAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIQRFRTLLDDLSGASVYMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQOKPKGAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGSDTFTTSSLOPEDIAITY CQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGVLRPSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVVSS</p>
SEQ ID NO 385	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 98	<p>NLVPMTVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTHSSGGTSLLMIDS GIGDNLFVAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIQRFRTLLDDLSGASVYMTAED VDLSLQVGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQOKPKGAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGSDTFTTSSLOPEDIAITY CQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGVLRPSQTLSLTCTVS RPSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS SVTVVSS</p>
SEQ ID NO 386	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 99	<p>GILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTHSSGGTSLLMIDSGI GDNLFVAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSA TSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIQRFRTLLDDLSGASVYMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICKASEDIYNRLT WYQOKPKGAPKLLISGATSLGTGVPFRSFGSGSDTFTTSSLOPEDIAITY</p>

<p>SEQ ID NO 387</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 100</p>	<p>CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGSGSGKPGSGEGSTKQQVQLQESGPGLV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGHWVVRQPPRGLWIGVMWRGGSTIDYNAA FMSRLNHTKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGG SLVTVS DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQOKPKGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISLLOPEDFATYCCQHHYTPPTFGQGTKV EIKRTGTSKSGKPGSGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFENIKDT YIHWVRAQPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVVYCSRWGGDGFYAMDVWGGQTLVTVSSEFPKPTPPGS SGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFSTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPGNGDTSFNQKFKGKATLADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFEDVWGAGTIVTSSGTSKSGKPGSGEGQVLSQSPILSAS PGEKVTMTRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTYSLTISRVEAEDAATYCCQWISNPTFGAGTKLELKEFKPSTPPG SSGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEDIYRNLTWYQKPKGA PKLLISGATSLTGVPSRFSRSGTDFLTISLLOPEDFATYCCQYWSNPY TFGQGTKEIKGSGSGQVQLQESGPGLVWRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPRGLWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNHTKDNSKNQVSLRSLSS VTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGGSLVTVSSTVEHDTLLY</p>
<p>SEQ ID NO 388</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 101</p>	<p>CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGSGSGKPGSGEGSTKQQVQLQESGPGLV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGHWVVRQPPRGLWIGVMWRGGSTIDYNAA FMSRLNHTKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGG SLVTVS DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQOKPKGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISLLOPEDFATYCCQHHYTPPTFGQGTKV EIKRTGTSKSGKPGSGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFENIKDT YIHWVRAQPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVVYCSRWGGDGFYAMDVWGGQTLVTVSSEFPKPTPPGS SGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFSTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPGNGDTSFNQKFKGKATLADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFEDVWGAGTIVTSSGTSKSGKPGSGEGQVLSQSPILSAS PGEKVTMTRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTYSLTISRVEAEDAATYCCQWISNPTFGAGTKLELKEFKPSTPPG SSGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEDIYRNLTWYQKPKGA PKLLISGATSLTGVPSRFSRSGTDFLTISLLOPEDFATYCCQYWSNPY TFGQGTKEIKGSGSGQVQLQESGPGLVWRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPRGLWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNHTKDNSKNQVSLRSLSS VTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGGSLVTVSSTVEHDTLLY</p>
<p>SEQ ID NO 389</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 102</p>	<p>CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGSGSGKPGSGEGSTKQQVQLQESGPGLV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGHWVVRQPPRGLWIGVMWRGGSTIDYNAA FMSRLNHTKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGG SLVTVS DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQOKPKGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISLLOPEDFATYCCQHHYTPPTFGQGTKV EIKRTGTSKSGKPGSGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFENIKDT YIHWVRAQPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVVYCSRWGGDGFYAMDVWGGQTLVTVSSEFPKPTPPGS SGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFSTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPGNGDTSFNQKFKGKATLADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFEDVWGAGTIVTSSGTSKSGKPGSGEGQVLSQSPILSAS PGEKVTMTRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTYSLTISRVEAEDAATYCCQWISNPTFGAGTKLELKEFKPSTPPG SSGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTLQRVAGISRTGMQRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGGQSVRVRGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASEDIYRNLTWYQKPKGA PKLLISGATSLTGVPSRFSRSGTDFLTISLLOPEDFATYCCQYWSNPY TFGQGTKEIKGSGSGQVQLQESGPGLVWRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPRGLWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNHTKDNSKNQVSLRSLSS VTAADTAVVYCAKSMITTFGVMDSWGQGGSLVTVSSTVEHDTLLY</p>

<p>SEQ ID NO 390</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 103</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 391</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 104</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSQYDPVAALF</p>
<p>SEQ ID NO 392</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 105</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSSCLGGLLTMV</p>

<p>SEQ ID NO 393</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 106</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRJNNVYRFADFVSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFPPKPTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPFRSFGSGGTDFTFISSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGGLVRPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVIH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSS VTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSILRGSVAHK</p>
<p>SEQ ID NO 394</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 107</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRJNNVYRFADFVSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFPPKPTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPFRSFGSGGTDFTFISSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGTSGGKPGSGEGTKQVQLQESGGLVRPSQTLSLTCT VSGFSLTSYGVIHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKD NSKNQVSLRSLSSVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSNLV PMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 395</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 108</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRJNNVYRFADFVSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFPPKPTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTP PTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQFGGSLRSLSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMQ NSLR AEDTA VYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLYTVSSNLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 396</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 109</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMRLFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDDLSGASYVMTAEDVDLILNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARHWPGGFDYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYL YHPAIFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 397</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 110</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMRLFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDDLSGASYVMTAEDVDLILNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARHWPGGFDYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYL YHPAIFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 398</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 111</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMRLFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDDLSGASYVMTAEDVDLILNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARHWPGGFDYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSIDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYL YHPAIFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 399</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 112</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFPPKSTP PGSSGGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNMHWVKQTP GQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGTSVSGKPGSGEGSQIVL SQSPTILSAPGEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPKSPKPIWYATSNLAS GVPARFSGSGTSSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTFGAGTKLEIK NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 400</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 113</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFPPKSTP PGSSGGAPQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHWVKQTP GQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARAQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGSDIVLSQPAILASAPG EKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPKSPKPIWYATSNLASGVPARFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTFGAGTKLEIKNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 401</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 114</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFPPKSTP PGSSGGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHWVKQTP GRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARSTYYGGDWYFNWVWAGTTVTVSAGTSSGKPGSGEGSTKGOI VLSQPAILASAPGEKVTMTCRASSSVYIHWFOOKPKSPKPIWYATSNLA SGVPVRFSGSGTSSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTFGAGTKLEIK NLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 402</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 115</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNMFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFFKPSTP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAASGITFSINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYY CKRFRFAAQGTDYWGQGTQVTVSSAHHSEDNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 403</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 116</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNMFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFFKPSTP PGSSGGAPDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAP RLISGATSLETGVPSPFSGSGKDYTLSTLQTEDVATYYCQQYWSPTPT FGGKLEIKGSTSGSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFS LISYGVHWVVRQSPGKGLEWLVGIWRGGSDYNAAFMSRLSITKDNSKSOV FFKMNSLQADDTAIYFCAKTLITTYAMDYWGQGTTVTVSSNLVPMVAT V</p>
<p>SEQ ID NO 404</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 117</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNMFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAHHSEDP SSKAPKAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRSCAASGITFSINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYY CKRFRFAAQGTDYWGQGTQVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 405</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 118</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNMFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVAAEFFKPSTP PGSSGGAPASVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWCRQCADSYRITYGETGGN SPVQEFVPGSWKTAIISGLKPGVDYTHITVYVVTHTHYGWDRYSHPIISINR TGSNLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 406</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 119</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAA TPTSLLSWCRQRCADSYRIFYGETGNSPVQEFTV PGSWKTA TISGLKPGVDYTIIVYV VTHYYGWDRYSHIPISINYRTGSEFPKPS TPPSSCGAPKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS AVAAANL VPMVATV KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGLTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHASAVAAEFKPKPSTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDLSLTHPVEEDDIAMYFCQQS RRVPYTFGGGKLEIKGGGGSEVOLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGKATLTSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGITLVTVSANLVPMVATV NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS VAAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFTTSSLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKEIKGGGGQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSY GVHWVVRQPPGRGLEWIGVMMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 407</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 120</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAA TPTSLLSWCRQRCADSYRIFYGETGNSPVQEFTV PGSWKTA TISGLKPGVDYTIIVYV VTHYYGWDRYSHIPISINYRTGSEFPKPS TPPSSCGAPKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS AVAAANL VPMVATV KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGLTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHASAVAAEFKPKPSTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDLSLTHPVEEDDIAMYFCQQS RRVPYTFGGGKLEIKGGGGSEVOLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGKATLTSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGITLVTVSANLVPMVATV NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS VAAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFTTSSLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKEIKGGGGQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSY GVHWVVRQPPGRGLEWIGVMMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 408</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 121</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAA TPTSLLSWCRQRCADSYRIFYGETGNSPVQEFTV PGSWKTA TISGLKPGVDYTIIVYV VTHYYGWDRYSHIPISINYRTGSEFPKPS TPPSSCGAPKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS AVAAANL VPMVATV KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGLTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHASAVAAEFKPKPSTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDLSLTHPVEEDDIAMYFCQQS RRVPYTFGGGKLEIKGGGGSEVOLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDGTYNEMFKGKATLTSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGITLVTVSANLVPMVATV NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS VAAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFTTSSLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKEIKGGGGQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSY GVHWVVRQPPGRGLEWIGVMMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 409</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 122</p>	<p>NLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINN VFYRFAD FSHVTFPGTTA VTL S ADSSY T TLQRVAGISRTGMQINRHS L TTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLD DLSGASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNR L T WYQQKPKAPKLLISGATSLETGVPSPRFGSGSDTFTTISLQPEDIATYY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGSKPGEGSTKQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGVHVVRRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA A FMSRLNITKDN SKNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGG SLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 410</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 123</p>	<p>NLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINN VFYRFAD FSHVTFPGTTA VTL S ADSSY T TLQRVAGISRTGMQINRHS L TTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLD DLSGASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAV AWYQQKPKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGRTDFTL TISLQPEDFAT YYCQHYTTPTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFNIKDTYIHWVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLF AVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINN VFYRFADFS HVTFFGTTA VTL S ADSSY T TLQRVAGISRTGMQINRHS L TTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLD DLSGASYVMTAEDV DLTNLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA V AAEFPKSTPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWI HWVVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGG GSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFGSGSDTFTL TISLQPEDFATYYCQQY LYHPATFGQGTKVEIK</p>
<p>SEQ ID NO 411</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 124</p>	<p>(This cell is empty in the original image)</p>

SEQ ID NO 412	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 125	<p>NL VPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISR TGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQQRGFRITLDDLSGASVVMETAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQISSWLAWYQQKP EKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFGSGTDFTLTISSLOPEDFATYCCQQYNS YPYTFQCGTKLEIKGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YDVHWVRQAPQRLEWGMGLHADTGHKFSQKFGQGRVTHTRDTSASTAY MELSSLRSEDAVYCARERIQWFDYWGQGTLVTVSS</p>
SEQ ID NO 413	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 126	<p>NL VPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQQRGFRITLDDLSGASVVMETAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTKASEDIYNRLT WYQQKPKAPKLLISGATSLETGVPSPRFGSGGTDFTTIESSLOPEDIAITY CQQYWSNPYTFQCGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRLLSVAADTAVYCAKSMITTFGVMDSWGQGLVTVSS</p>
SEQ ID NO 414	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 127	<p>NL VPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQQRGFRITLDDLSGASVVMETAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPQVQLQQPQGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFYTSY NVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNQKFKGATLTADKSSSTVYM QLSSLTSEDSAVYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSGCK PGSGEGSQVLSQSPITLSASPGKEKVTMTCRASSSVSYMWDWYQQKPGSSPKP WIYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYCCQQWISNPPTF GAGTKLELK</p>

SEQ ID NO 415	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 128	<p>NL VPMVA TVKFE TLD FSTAK TYVDSL NVIRSAIGT PLQTISSGGT SLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNR TNVVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAGGGGGQQVQLVQSGAELVKPGASVKMCKASKGYTFTSYNMHWVK QTPGQGLEWIGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYYCARAQLRPNYWYFDVWGAGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGSDIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSS PKPWYATSNL ASGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNP PTFGAGTKLELK</p>
SEQ ID NO 416	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 129	<p>APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKAT ELKHLQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISILTEFPKPTPPGSSGGAPNLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGT PLQTISSGGT SLLMIDSGIDNLFA VDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNR TNVVFYRFADFSHVTFPG TTA VTL SADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 417	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 130	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGT PLQTISSGGT SLLMIDSGI GDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNR TNVVFYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAV AAFFPKPTPPGSSGGAPATSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNP KLTRMLTFKFYMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVNL AQSKNFHLRPRDL ISNINVVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISILT</p>

<p>SEQ ID NO 418</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 131</p>	<p>MNLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFA DFHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPFRFSGSGTDFTTISLQPEDIAITYY CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 419</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 132</p>	<p>MNLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFA DFHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPFRFSGSGTDFTTISLQPEDIAITYY CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 420</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 133</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFA DFHVTFPGTTAVTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPFRFSGSGTDFTTISLQPEDIAITYY CQQYWSNPYTFGQGTKEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGS LVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 421</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 134</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRTRNNVYRFADF\$HVTFFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVVTAEALRFRQQRGERTLLDDLSGASVYMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCKASEDIYNRLTWYQQKPKGK APKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLPEDIATYCCQYWSNP YTFQGGTKVEIKGSTSGKPGSGEGSTKGVQLQESGGLVRPSQTLSTL CTVSGFSLTSYGVHWVRQPPRGLWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRSLSSVTAADTA VYYCAKSMITTFGVMDSWGQGLVTVSS NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 422</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 135</p>	<p>MGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRTRNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVVTAEALRFRQQRGERTLLDDLSGASVYMTAED VDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VA AEFKPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCKASEDIYNRLT WYQQKPKKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLPEDIATY CQYWSNPYTFQGGTKVEIKGSTSGKPGSGEGSTKGVQLQESGGLV RPSQTLSTLCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPRGLWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTA VYYCAKSMITTFGVMDSWGQ SLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 423</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 136</p>	<p>MDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCRASQDVNTAVAVYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGRSGTDFITSSLPQEDFATYCCQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGTSISGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNIK DTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGGQGLVTVSSEFPKPSPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFDTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRTRNNVY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVVTAEALRFRQQRGERTLLDDLSGASVYV TAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 424</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 137</p>	<p>MQVQLQQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYFTSYNVHVVVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLADKSSSTVYMQLSLTSSEDAVYYCARSNYYGSSYVWFEDVWGAGTIVTVSSGSTSGSKPGSGEQVLSQSPHTLSASPGKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKGWYATSNLASCVPARFSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKFKPKPSTPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLQTHISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNIVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLADSSYITLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQGRFTLLDLSGASVYMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPPKPTPPSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFENIKDITYIHWVRQAPGKGLEWVARIYFINGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGEYAMDYWGQGTLVTVSSNLYPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 425</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 138</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLQTHISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNIVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLADSSYITLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQGRFTLLDLSGASVYMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPPKPTPPSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFENIKDITYIHWVRQAPGKGLEWVARIYFINGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGEYAMDYWGQGTLVTVSSNLYPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 426</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 139</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLQTHISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNIVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLADSSYITLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQGRFTLLDLSGASVYMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPPKPTPPSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGTFSDSWIHVVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRWPGGFDYWGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 427</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 140</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKPST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQGGSSGGSGLVWVROAPG KGLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTILVTYSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGGTDFLTITSSLQPEDEFATYYCQQYLYHPATFGQ GFKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 428</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 141</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKPST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASQGGSSGGLVWVROAPG APKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFLTITSSLQPEDEFATYYCQQYNSYP YTFGQGTLEIKGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTSYD VHWVROAPGQRLEWMGWLHADTGTGKFSQKFGQGRVTITRDTASASTAYME LSSLRSEDTAVYYCARERIQLWFYWGQGTILVTYSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 429</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 142</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRNINNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKPST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTICRASEDIYNRLLTWYQQKPKG APKLLISGATSLETGVPSPRFSGSGGTDFLTITSSLQPEDIATYYCQQYWSNP YTFGQGTLEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGV HWVROPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITDNKSNQVSLRSL SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVSSNLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 430</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 143</p>	<p>QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPTLSAS PGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFPKPTPPG SSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTLPQTSSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYF RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 431</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 144</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCAR NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPTLS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFPKPTTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTLPQTSSGGT LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNV YRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 432</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 145</p>	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGRVTTTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPTFGQGT KVEIKRTGTSGSKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNIK DTYIHWRQAPKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWQQGTLVTVSSEFPKPTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTLPQTSSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYF RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNSHH HASAVAAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 433</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 146</p>	<p>MDIQMTQSPSSLASVGDRLVTHTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGSDTDFLTIISSLQPEDFATYYCQHQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGTSVSGGKPGSEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGPNIK DTYIHWRQAPKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWQQTLLVTVSSEFPKSTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLEFVAVDILGDFDTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVY REAFDHSVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 434</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 147</p>	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTHTCASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPSPRFSRSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQYQYWSPTFGGGTK LEIKGTSVSGGKPGSEGEKVLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVRQSPGKGLEWLVIVRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKQVFFKMN SLQADDTAIFYCAKTLITTYAMDYWGQGTTVTVSSEFPKSTPPGSSGGA PGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLEFVAVDILGDFDTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYREADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTNLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 435</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 148</p>	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTHTCASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPSPRFSRSGSGKDYTLSTSLQTEDVATYYCQYQYWSPTFGGGTK LEIKGTSVSGGKPGSEGEKVLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVRQSPGKGLEWLVIVRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKQVFFKMN SLQADDTAIFYCAKTLITTYAMDYWGQGTTVTVSSEFPKSTPPGSSGGA PGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLEFVAVDILGDFDTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTNLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAKDEL</p>

SEQ ID NO 436	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 149	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGEVSISCRSSKSLNSNGNTYLYWFLQRPGQSPQL LIYRMSNLASGVPPDRFSGSGGTAFILRISRVEAEDVGVYCMQHLEYPTT FGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKS SSTAAMELSSLTSEDSAVVYCARGTYYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFP KPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTI SGGTSLLMIDSGIGDNLEAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNR TNNVYRFADFESHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLT TSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDLDLGG ASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVAL ILNSHHASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 437	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 150	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGEVSISCRSSKSLNSNGNTYLYWFLQRPGQSPQL LIYRMSNLASGVPPDRFSGSGGTAFILRISRVEAEDVGVYCMQHLEYPTT FGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKS SSTAAMELSSLTSEDSAVVYCARGTYYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFP KPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTI SGGTSLLMIDSGIGDNLEAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNR TNNVYRFADFESHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLT TSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDLDLGG ASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVAL ILNSHHASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 438	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 151	<p>MDIQLTQSPLSLPLVILGQFASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFOQRPGQSPRL LIYTVSNRFGVPPDRFSGSGGTDFLTKISRVEAEDVGVYFCSSSHVPTTFC AGRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGOVQLQQSGSELKPKPGASVKVSCKAS GYFTNYGVNWKQAPQGLQWGMWINPNTGPTFDDDFKGRFAFSLDTS VSTAYLQJSSLKADDTAVYFCRSRKGNEAWFAWYWGQGTTLTVSSEFPKPS TPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLEAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTN VFYRFADFESHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSY LDLMHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDLDLGGASY VMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILN SHHASAVA AKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 439</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 152</p>	<p>MDIQLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLVHWFQQRPQSPRL LIYTVSNRFSGVPDRFSGSGGTDFLTKISRVEAEDVGVYFCSQSSHVPPTFG AGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKQVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKAS GYTFTNYGVNWIKQAPGQGLQWMGWINPNTGEPFDKGRFAFLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRCKNEAWFAFWGQGTLVTVSSEFFKPS TPPGSSGGAPGILGFVTLKKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNN VFYRFADFHVTFPGTTAVTLDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSY LDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGSASY VMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILN SHHHA SVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 440</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 153</p>	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGIIIFTSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHSEDPSSKAPKAPGILGFVTLKKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDTL RFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVFYRFADFHVTFPGTTAVTLDSS YTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIQRGFRTLLDLDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 441</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 154</p>	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGIIIFTSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFFKPSIPPGSSGGAPGILGFVTLKKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDTL RFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVFYRFADFHVTFPGTTAVTLDSS YTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIQRGFRTLLDLDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 442</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 155</p>	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGIIIFTSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHSEDPSSKAPKAPGILGFVTLGILGFVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVFYRFADFHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 443</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 156</p>	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITEFSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKSTPPGSSGGAPGILGFVFTLGHVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGCFVNRINN VFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNHWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 444</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 157</p>	<p>MAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLIRMLTFKFMFKK ATELKHILQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETT FMCEYADETATIVFELNRWITFCQSIISTLTFPKPSTPPGSSGGAPGILGFV TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGCFVNRINN VFYRFADFSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNHWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 445</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 158</p>	<p>MAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLIRMLTFKFMFKK ATELKHILQCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVI VLELKGSETT FMCEYADETATIVFELNRWITFCQSIISTLTFPKPSTPPGSSGGAPGILGFV TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGCFVNRINN VFYRFADFSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNHWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 446</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 159</p>	<p>MQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEW IGAIYPCNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR AQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGEKVTMTCRASSSVYMHWYQKPGSSPKPWYATSNL ASGVPARFSG SGSGTYSLSITSRVEAEDAATYCCQWISNPPFTFGAGTKLELKEFKKPTTP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGCFVNRINN VFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNHWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA</p>

SEQ ID NO 447	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 160	<p>MQVQLQQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFEDVWGAGTTVSSGGTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPHTLS ASPGEEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVF YRFADFSHYTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRFVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 448	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 161	<p>MQVQLQQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFEDVWGAGTTVSSGGTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPHTLS ASPGEEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVF YRFADFSHYTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRFVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 449	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 162	<p>MQVQLQQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFEDVWGAGTTVSSGGTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPHTLS ASPGEEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVF YRFADFSHYTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRFVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 450</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 163</p>	<p>MQVQLQQPGAEIVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEW IGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR STYYGGDWYENVWGAGTTVVSAGSTSGSKPGSGEGSTKQIVLSQSPA ILSASPEKVTMTRASSSVYHWFQKPGSSPKPWYATSNLASGVPVRF SSGSGTYSLSISRVEAEDAATYYCQQWTSNPTFFGGTKLEIKFPPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPELQTISSGGT SLLMIDSGIGDNLFVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNVV FYRADFHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTYSYL DLMHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 451</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 164</p>	<p>MEVQLVESGGGLVQPGRSLRSLSCAASGFTFNDYAMHWVVRQAPGKGLEW VSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNLSLRAEDTALYYCAK DIQYGNYYYGMDVWVGGQTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSEIVLTQSPATLS LSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYDASNRAATGIPARFS GSGSGTDFLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPIFFGQTRLEIKFPPKSTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPELQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNVFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTYSYLDL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 452</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 165</p>	<p>MEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQKPGQAPRLLIYD ASNRAATGIPARFSGSGGTDFLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPIFFGQGT RLEIKGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGVQLVESGGGLVQPGRSLRL SCAASGFTFNDYAMHWVVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTI SRDNAAKSLYLQMNLSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWVGGQTTV TVSSEFPKSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIG TPELQTISSGGTSLMIDSGIGDNLFVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYV TGFVNRITNVFYRFAVDFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQ INRHSLLTYSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRIT LDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAI LGSVALILNSHHASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 456</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 169</p>	<p>MQVQLQOQPGEAEVVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVGAGTIVTVSSGSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPHLSASPGKVTMTRASSSVSYMDWYQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWISNPTFGAGTKLELKEFPKSTP PGSSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNS HHHASA VAACITGDALVALPEGESVRIADIVPGARPNSDNAIDLKVLDRHG NPVLADRLFHSGEHPVYTVRTVEGLRVTGTANHPLLCLVDVAGVPTLLWK LIDEIKPGDYAVIQRSAFSDCAGFARGKPEFAPTTYTVGVPGVRFLEAHH RDPDAQAIADDELTDGRFYAKVASVTDAGVQPVYSLRVDTADHAFITNGF VSHATGLTGLNSGLTTNPGVSAWQVNTAYTAGQLVTYNGKTYKCLQPHT SLAGWEPNSVNPALWQLQ</p>
<p>SEQ ID NO 457</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 170</p>	<p>MQVQLQOQPGEAEVVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTIVTVSSGSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPHLSASPGKVTMTRASSSVSYMDWYQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWISNPTFGAGTKLELKEFPKSTP PGSSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFESHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNS HHHASA VAACITGDALVALPEGESVRIADIVPGARPNSDNAIDLKVLDRHG NPVLADRLFHSGEHPVYTVRTVEGLRVTGTANHPLLCLVDVAGVPTLLWK LIDEIKPGDYAVIQRSAFSDCAGFARGKPEFAPTTYTVGVPGVRFLEAHH RDPDAQAIADDELTDGRFYAKVASVTDAGVQPVYSLRVDTADHAFITNGF VSHATGLTGLNSGLTTNPGVSAWQVNTAYTAGQLVTYNGKTYKCLQPHT SLAGWEPNSVNPALWQLQ</p>

<p>SEQ ID NO 458</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 171</p>	<p>MQVQLQQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVVYCAR NYYGSSYVWFFDVGAGTIVVSSGTSVSGKPGSGEGSQIVLSQSP ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKSSPKWYATSNLASCVPARF GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKFKPKP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLO TISSGGTSLMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLY VTGFYVNRRTNNTVYRFAFESHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAG ISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAVTLSADSSYTT LQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAML RFVTVTAELRFRQQRGFTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAVILNSHHASAVA AEFPPKSTPPGSSGGAPGILGFVFTLMQVQLQQPGAEELVKPGAS VKMSCKTSGYFTFSYNVHWVVKQTPGQGLEWIGAIYPNGDTSFN QKFKGKATLADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVVYCAR NYYGSSYVWFFDVGAGTIVVSSGTSVSGKPGSGEGSQIVLSQ SPASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKSSPKWYATSNL ASCVPARFGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFG AGTKLEKFKPKPSTPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAK TYVDSLNVIRSAIGTIPLOTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAV HHAASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 459</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 172</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLOTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNTVYRFAFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAVILNSHHASAVA AEFPPKSTPPGSSGGAPGILGFVFTLMQVQLQQPGAEELVKPGAS VKMSCKTSGYFTFSYNVHWVVKQTPGQGLEWIGAIYPNGDTSFN QKFKGKATLADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVVYCAR NYYGSSYVWFFDVGAGTIVVSSGTSVSGKPGSGEGSQIVLSQ SPASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKSSPKWYATSNL ASCVPARFGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFG AGTKLEKFKPKPSTPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAK TYVDSLNVIRSAIGTIPLOTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAV HHAASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 460</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 173</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLOTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNTVYRFAFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGSAVILNSHHASAVA AEFPPKSTPPGSSGGAPGILGFVFTLQSPSSVSLGDRVTITCKASEDI YNRLAWYQKPGNAPRLLISGATSLGTGVPSPRFGSGGKDYTL SITSLQTEDVATYYCQYVSTPTFGGGTKLEIKGTSVSGKPGSGEGSK VQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGVHWVROSPGK GLEWLVGIWRGGSTDYNAAFMSRLSITNDNSK SQVFFKMNSLQADDTAIFYCAKTLITTTGYAMDYWGQGT TTVTS</p>
<p>SEQ ID NO 461</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 174</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLOTISSGGTSLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNTVYRFAFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV</p>

<p>SEQ ID NO 462</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 175</p>	<p>RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHQQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAW YQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFGSGGKDYTLSTLSLQTIEDVATYY CQYWSPTFGGGTKLEIKGSTSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQR LSITCTVSGFSLISYGVHWVRQSPGKLEWLVGIWRGGSTDYNAAFMSRLS ITKDNSKSQVFFKMNSLQADDITAIYFCAKTLITITGYAMDYWGQGITVTVS S MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTIT AVTLADSSYITLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHQQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCRASQDVNTAVA WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTHTSSLQPEDFATY YCQQHYTTPPTFGQGTKEIKRTGSTSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 463</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 176</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTIPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTIT AVTLADSSYITLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHQQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCRASQDVNTAVA WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTHTSSLQPEDFATY YCQQHYTTPPTFGQGTKEIKRTGSTSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 464</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 177</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSDSSYTTLQRAVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGRTTLDLDSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHAASAVAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVMTQAAPSPVTPGESVSISCRSSKSLNSNGNT YLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLAGVDPDRFSGSGGTAFTRISRVEAED VGVYYCMQHLEYPTFGAGTKLELKGSTSGKPGSGEGSEVQLQQSGPE LIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFD YWGQGTLLTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 465</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 178</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSDSSYTTLQRAVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGRTTLDLDSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHAASAVAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVMTQAAPSPVTPGESVSISCRSSKSLNSNGNT YLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLAGVDPDRFSGSGGTAFTRISRVEAED VGVYYCMQHLEYPTFGAGTKLELKGSTSGKPGSGEGSEVQLQQSGPE LIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFD YWGQGTLLTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 466</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 179</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSDSSYTTLQRAVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGRTTLDLDSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHAASAVAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQLTQSPLSLPLVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFQRPQSPRLLIYTVSNRFSVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPTFGAGTRLEIKGSTSGKPGSGEGSTKQVQLQQSG SELKKPGASVKVCKASGYTFTNYGVNWKAPQGLQWGMWINPNTGE PTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWFA YWGQGTLLTVSS</p>

SEQ ID NO 467	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 180	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRTVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQLTQSPLSLPTLGPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFQQRPQSPRLLIYTVSNRFSVPPDRFSGSGSDFTLKI SRVEAED VGVYFCSQSSHVPTFGAGTRLEIKGSTSGSKPGSGESTKGOVQLQSSG SELKPGASVKVCKASGYTFTNYGVNWKQAPGQGLQWGMWINPTIGE PTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRGRKNEAWFA YWGQGLVTVVSS</p>
SEQ ID NO 468	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 181	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRTVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AAHSE PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGIFTSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVY LQMNS LKPEDTAVYYCKRFRTA AOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
SEQ ID NO 469	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 182	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRTVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGIFTSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVY LQMNS LKPEDTAVYYCKRFRTA AOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
SEQ ID NO 470	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 183	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRTVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AAHSE PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGIFTSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVY LQMNS LKPEDTAVYYCKRFRTA AOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>

SEQ ID NO 471	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 184	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHSAVAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLEVOLVESGGGLVQAGGSLRSLCAASGITFESINTM GWYRQAPKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNKNTVYVYLMNS LKPEDTAVYYCKRFTAAGTDYWGQGTQVTVSS</p>
SEQ ID NO 472	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 185	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHSAVAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTS LVQWYQQKPGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDLFLTHPVEEDDI AMYFCQQSRRVPYTFGGGTLKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMS CKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNDGTYKYNEMFKGKAT LTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLYTVSA</p>
SEQ ID NO 473	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 186	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHSAVAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTS LVQWYQQKPGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDLFLTHPVEEDDI AMYFCQQSRRVPYTFGGGTLKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMS CKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNDGTYKYNEMFKGKAT LTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLYTVSA</p>

SEQ ID NO 477	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 190	<p>VYALPLKMLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTHISSGGTSLLMIDSG IGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFS HVTFFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHSHG TSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSPRFSGSGSDTFTFISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGQQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNS KNOVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQSLVTVSS</p>
SEQ ID NO 478	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 191	<p>NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTHISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSPRFSGSGSDTFTFISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ SLVTVSS</p>
SEQ ID NO 479	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 192	<p>GILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTHISSGGTSLLMIDSGI GDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFS HVTFFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHS TSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAFFPKPSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSPRFSGSGSDTFTFISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ SLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 480</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 193</p>	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRAVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGSRSGDIDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKV EIKRTGSTSGSKPGSEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFKNIKDT YIHWVRQAPGKGLVWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWQGQGLVTVSSEFPKPSFPPGS SGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDLSNVIIRSAIGTPIQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFY RFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVTVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 481</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 194</p>	<p>QVQLQPGAEELVKPGASVKMSCKTISGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFEDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSEGEVQLVLSQSPITLSAS PGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQINPQSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFPKPSFPPG SSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDLSNVIIRSAIGTPIQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFY RFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVTVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 482</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 195</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDLSNVIIRSAIGTPIQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVTVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPPKPSF PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRAVTITCRASEDIYNRLLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFITISLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVWVRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITIGFVMDSWGQGLVTVSSVTEHDITLLY</p>

SEQ ID NO 483	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 196	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDDLGASVYMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAEEFKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITTKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLGTVPSRFSGSGGTDFTTISLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRSQILSLCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSS VTAADTAVVYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSNLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 484	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 197	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDDLGASVYMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAEEFKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITTKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLGTVPSRFSGSGGTDFTTISLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRSQILSLCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSS VTAADTAVVYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSQYDPAALF</p>
SEQ ID NO 485	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 198	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDDLGASVYMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAEEFKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITTKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLGTVPSRFSGSGGTDFTTISLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRSQILSLCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSS VTAADTAVVYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSCLGGLTMV</p>

SEQ ID NO 486	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 199	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASVYMTAEDVDLILNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDVDRVTHICKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPFRSFGSGGTDFITISSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRSQILSLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQSLVTYSSILRGSVAHK</p>
SEQ ID NO 487	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 200	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASVYMTAEDVDLILNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDVDRVTHICKASEDIYNRLTWYQQKPKGA PKLLISGATSLETGVPFRSFGSGGTDFITISSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLQESGPGLVRSQILSLTCT VSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKD NSKNQVSLRLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQSLVTYSSNLV PMVAVTV</p>
SEQ ID NO 488	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 201	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQQRGFRITLDDLSGASVYMTAEDVDLILNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPSIP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDVDRVTHICKASQDVNTAVAWYQQKPKG APKLLIYSAFLYSGVPSRFSRSGTDFITISSLQPEDFATYYCQQHYTTP PTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFNIKDTYI HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTYSSNLVPMVAVTV</p>

<p>SEQ ID NO 489</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 202</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGVALILNSHHASAVAAEFPKPSTP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFDYWGQGITLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTA VAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYL YHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFFL</p>
<p>SEQ ID NO 490</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 203</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGVALILNSHHASAVAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKA PKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPY TFGQGTKLEIKGGGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDV HWVVRQAPGQRLEWMGWLHADTGITKFSQKFGQGRVTITRDTASASTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGITLVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 491</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 204</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGVALILNSHHASAVAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSPRFSGSGGTDFTTIFSSLQPEDIATYYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGLVPRPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSSNLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 492	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 205	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMHSHTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFPKPSTP PGSSGGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTSYNVHWVKQTP GQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSGTSGKPGSGEGSQIVL SQSPTILSASPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLAS GVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTFGAGTKLEIK NLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 493	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 206	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMHSHTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFPKPSTP PGSSGGAPQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTP GQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARAQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGSDIVLSQSPAILSASPG EKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTFGAGTKLEIKNLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 494	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 207	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMHSHTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFPKPSTP PGSSGGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTP GRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARSTYYGGDWYFNWVWAGTTVTVSSGSGTSGKPGSGEGSTKGOI VLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWYQQKPGSSPKPWYATSNLA SGVPRFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGKLEIK NLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 495</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 208</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNHHHSAVAAEFPKPSIP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYY CKRFRFAAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHHSEDNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 496</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 209</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNHHHSAVAAEFPKPSIP PGSSGGAPDIELTQSPSSFSVSLGDRVHTTCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAP RLLISGATSLTEIGVPSRFSFGSGGKDYTLSTLSLQTEDVATYYCQQYWSIPT FGGGKLEIKGSTSGSGKPGSGEKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFS LISYGVHVVRRQSPKGLEWLVGIWRGGTDYNAAFMSRLSITKDNKSQV FFKMNSLQADDTAIFYCAKTLITTYAMDYWGQGTTVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 497</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 210</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNHHHSAVAAAHISED SSKAPKAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYY CKRFRFAAQGTIDYWGQGTQVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 498</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 211</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNHHHSAVAAEFPKPSIP PGSSGGAPASVSDVPRDLEVVAAIPTSLISWCRQRCADSYRITYGETGGN SPVQEFTVPGSWKTAATISGLKPGVDYTTITVYVTHYYGWDRIYSHIPISIN YR TGSNLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 499</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 212</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAA TPTSLLSISWCQRCADSYRITYGETGGNSPVQEFTV PGSWK TATISGLKPGVDYTIIVV VTHYYGWD RYSHPI SIN YRTGSEFPKPS T PPGSSGGAPKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVADALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAANLVPMVATV KEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAEDVDLTLNWGR L SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAEFKPSPTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPPKLLIYAASSVD SGVPARFSGSGGIDFSLTIHPVEEDDIAMYFCQQS RRVPYTFGGGTKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPENDGTKY NEMFKGKATL TSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLVTVSANLVPMVATV NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGIDFIFTISSLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSY GVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDN SKNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQCSLVTYSS</p>
<p>SEQ ID NO 500</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 213</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAA TPTSLLSISWCQRCADSYRITYGETGGNSPVQEFTV PGSWK TATISGLKPGVDYTIIVV VTHYYGWD RYSHPI SIN YRTGSEFPKPS T PPGSSGGAPKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVADALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAANLVPMVATV KEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAEDVDLTLNWGR L SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAEFKPSPTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPPKLLIYAASSVD SGVPARFSGSGGIDFSLTIHPVEEDDIAMYFCQQS RRVPYTFGGGTKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPENDGTKY NEMFKGKATL TSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLVTVSANLVPMVATV NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGIDFIFTISSLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSY GVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDN SKNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQCSLVTYSS</p>
<p>SEQ ID NO 501</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 214</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAA TPTSLLSISWCQRCADSYRITYGETGGNSPVQEFTV PGSWK TATISGLKPGVDYTIIVV VTHYYGWD RYSHPI SIN YRTGSEFPKPS T PPGSSGGAPKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVADALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAANLVPMVATV KEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAEDVDLTLNWGR L SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAEFKPSPTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPPKLLIYAASSVD SGVPARFSGSGGIDFSLTIHPVEEDDIAMYFCQQS RRVPYTFGGGTKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPENDGTKY NEMFKGKATL TSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLVTVSANLVPMVATV NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSL NVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRITLDDL S GASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNSHHHASA VAAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASEDIYNRLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGIDFIFTISSLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSY GVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDN SKNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQCSLVTYSS</p>

SEQ ID NO 502	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 215	<p>NL VPMVA TVKEFTLDFSTAKTY VDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTTSSLQPEDIAITY CQYWSNPYTFGGQTKVEIKGSTSGSKPGSGEGTKQQVQLQESGPGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQG SLVTVSS</p>
SEQ ID NO 503	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 216	<p>NL VPMVA TVKEFTLDFSTAKTY VDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAV AWYQQKPKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQHYTTPPTFGQTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTY VDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGI</p>
SEQ ID NO 504	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 217	<p>GDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVFYRFADFS HVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAV HWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ NSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGG GSGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQQ KPKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQY LYHPATFGGQTKVEIK</p>

<p>SEQ ID NO 505</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 218</p>	<p>NLVPMVATVKEFTLDFESTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKP EKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYQCQYNS YPYTFQCGTKLEIKGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTS YDVHWVRQAPQRLEWGMGWLHADTGITKFSQKFGQRVTITRDTSASTAY MELSSLRSEDTAVYCARERIQLWFDYWGQGTLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 506</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 219</p>	<p>NLVPMVATVKEFTLDFESTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPKAPKLLISGATSLGTGVPFRFSGSGTDFITFISSLPEDIATY CQYWSNPYTFGQGTVEIKGGGSQVQLQESGPGLVPSQTLSTCTVVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNOVSLRSLSSVTAADTAVYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 507</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 220</p>	<p>NLVPMVATVKEFTLDFESTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNVFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAEFPKSTPPGSSGAPQVQLQPGAEVKPGASVKMSCKTSGYTFTSY NVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYM QLSLTSSEDSAVYCARSNYYGSSYVWFFDVWAGITTVVSSGTSVSGSK PGSGEGSQIVLSQSPITLSASPGKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKP WIYATSNLASGVPARFSGSGTSLTISRVEAEDAATYQCQWISNPPTF GAGTKLELK</p>

<p>SEQ ID NO 508</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 221</p>	<p>NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRINNVPFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAGGGGGQVQLVQSGAELVKPGASVKMCKKASGYTFTSYNMHWVK QTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLADKSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYYCARAQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGSSG GGGGGGSDIVLSQSPAILSPGEEKVTMTCRASSSVSYMHWYQKPGSS PKPWYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAAITYYCCQWISNP PTFGAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 509</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 222</p>	<p>APTSSSTKNTQLQLEHLLLDLQMLINGINNYKNPKLTRMLTFKFMPPKAT ELKHLQCLEEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTF MCEYADETATVEFLNRWITFCQSIISTLTFEPKPTPPGSSGGAPNLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIDNLFA VDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRINNVPFYRFADFSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHAAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 510</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 223</p>	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRINNVPFYRFADFS HVTTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA AAEFKPTPPGSSGGAPAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLINGINNYKNP KLTRMLTFKFMPPKATELKHLCLEELKPLEEVNLQAQSKNFHLRPRDL ISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATVEFLNRWITFCQSIISTLT</p>

<p>SEQ ID NO 511</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 224</p>	<p>MNLVPMVAVTKKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGIGDNLFAVDILGDFDILGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKPSPPGSSCGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFITFISLQPEDIAITY CQQYWSNPFYTFGQTKVEIKGSTSGSKPGSGEGTKGQVQLQESGPGLV RPSQILSLTCTVSGFSLTSYGVHVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAA FMSRLNITKDNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQG SLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 512</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 225</p>	<p>MNLVPMVAVTKKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGIGDNLFAVDILGDFDILGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKPSPPGSSCGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFITFISLQPEDIAITY CQQYWSNPFYTFGQTKVEIKGSTSGSKPGSGEGTKGQVQLQESGPGLV RPSQILSLTCTVSGFSLTSYGVHVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAA FMSRLNITKDNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQG SLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 513</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 226</p>	<p>MKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDILGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFAFDFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPS PPGSSCGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFITFISLQPEDIAITYCQQYWSNP YTFGQTKVEIKGSTSGSKPGSGEGTKGQVQLQESGPGLV RPSQILSLTCTVSGFSLTSYGVHVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAA FMSRLNITKDNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLVTVSS NLVPMVAVT</p>

<p>SEQ ID NO 521</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 234</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSCGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKPST PPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDVSTAVAWYQQKPKGAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSFGSGGIDFTLTISSLQPEDFATYYCQQQLYHPATIFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 522</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 235</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSCGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKPST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQGISSWLAWYQQKPEK APKSLIYAASSLQSGVPSRFSFGSGGIDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYP YTFGQGTKLEIKGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFTSYD VHWVROAPGQRLWGMGWLHADTGIHKFSQKFOGRVITITRDTASATA YME LSSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGTIVTVSSNLPVMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 522</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 235</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSCGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKPST PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASEDIYNRLTWYQQKPKG APKLLISGATSLTGVPFRFSFGSGGIDFTLTISSLQPEDIATYYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGFSLTSYGV HWVROPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSIVTVSSNLPVMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 523</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 236</p>	<p>QVQLQQPAAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGQIVLSQSPITLSAS PGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKGSSPKWIYATSNLASCVPARFSGS GSGTYSLSISRVEAEDAATYYCOQWISNPFTFAGTIKLELKEFKPSTPPG SSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLI MIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVYF RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 524</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 237</p>	<p>MQVQLQQPAAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCAR NYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGQIVLSQSPITLS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKGSSPKWIYATSNLASCVPARF GSGTYSLSISRVEAEDAATYYCOQWISNPFTFAGTIKLELKEFKPSTP PGSSGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGT LLMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNV YRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 525</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 238</p>	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISLQPEDFATYYCOQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGTSKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNIK DTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVWQGTLYTVSSEFKPSTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNVYF RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNSHH HASAVAAKDEL</p>

SEQ ID NO 526	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 239	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPTFGGQGT KVEIKRTIGSTSGSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNK DITYIHVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGQGTILVTSSEFFPKPSTPP GSSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNLR LIVERNNLYVTGFVNR TNV FY RFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHH HASAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 527	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 240	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPSRFSGSGGKDYTL SITSLOQTEDVATYYCQQYWSIPTFGGGTK LEIKGSTSGSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVVRQSPGKGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKQVFFKMN SLQADDTAIYFC AKTLITTYAMDYWGQGTITVTSSEFFPKPSTPPGSSGGA PGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNLR LIVERNNLYVTGFVNR TNV FYR ADFS HVTFFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAV AAKDEL</p>
SEQ ID NO 528	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 241	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPSRFSGSGGKDYTL SITSLOQTEDVATYYCQQYWSIPTFGGGTK LEIKGSTSGSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVVRQSPGKGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKQVFFKMN SLQADDTAIYFC AKTLITTYAMDYWGQGTITVTSSEFFPKPSTPPGSSGGA PGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNLR LIVERNNLYVTGFVNR TNV FYR ADFS HVTFFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAV AAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 529</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 242</p>	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNSNGNTYLYWFLQRPQSPQL LIYRMSNLAGVPPDRFSGSGGTAFTRISRVEAEDVGVVYCMQHLEYPTT FGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGEVQLQQSGPELIKPGASVKMCKASG YTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKKS SSTAYMELSSLTSEDSAVVYCARGTYYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFP KPSTPPGSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTI SGGTSLLMIDSGIGDNLFVAVDILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHS LTSYLALMESHGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSG ASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVAL ILNSHHASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 530</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 243</p>	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNSNGNTYLYWFLQRPQSPQL LIYRMSNLAGVPPDRFSGSGGTAFTRISRVEAEDVGVVYCMQHLEYPTT FGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGEVQLQQSGPELIKPGASVKMCKASG YTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKKS SSTAYMELSSLTSEDSAVVYCARGTYYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFP KPSTPPGSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTI SGGTSLLMIDSGIGDNLFVAVDILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNR TNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHS LTSYLALMESHGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSG ASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVAL ILNSHHASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 531</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 244</p>	<p>MDIQLTQSPLSLPTLGGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFOQRPQSPRL LIYTVSNRFGVPPDRFSGSGGTDFLNRISRVEAEDVGVVYFCSQSSHVPTFG AGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGOVOLQQSGSELKPKPGASVKVSKKAS GYTFTNYGVNWIQAPGQGLQWGWINPNTGEPFDDEDFKGRFAFSLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCSRSRGNKNEAWFAYWGQGTTLTVSSSEFPKPS TPPGSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLFVAVDILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRFTNN VFYRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHS LTSYLALMESHGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSG ASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVAL ILNSHHASAVA AKDEL</p>

SEQ ID NO 532	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 245	<p>MDIQLTQSPLSPLVTLGQFASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFOQRPGQSPRL LIYTVSNRFGVPPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSSSHVPPFTFG AGTRLEIKGSTGSKPGSGEGSTKQVQLQQSGSELKPKGASVKVSCKAS GYFTFNYGVNWIKQAPGQGLQWGWINPNTGPTFDDDDKGRFAFLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWFAFWGQGTLVTVSSEFPKPS TFPSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNN VFYRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSY LALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASY VMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILN SHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 533	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 246	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHHSEDPSSKAPKAPGILGFVFTLKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLG RFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSS YTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 534	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 247	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKPSPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLG RFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSS YTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 535	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 248	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHHSEDPSSKAPKAPGILGFVFTLGLGFVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 536</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 249</p>	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGHTFISINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKSTPPGSSGGAPGILGFVFTLGILGFVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNLRILVERNLYVTGFVNRINNRYFADFVSHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSITTSYALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAELRFRQIRGERTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAJLNSHHHAASA AAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 537</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 250</p>	<p>MAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKGYMPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETT FMCEYADETATVEFLNRWITFCQSIHSTLTFEPKSTPPGSSGGAPGILGFV TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGDFDLGRFNNLRILVERNLYVTGFVNRINNRYFADFVSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSITTSYALMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIRGERTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAJLNSHHHAASA AAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 538</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 251</p>	<p>MAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKGYMPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETT FMCEYADETATVEFLNRWITFCQSIHSTLTFEPKSTPPGSSGGAPGILGFV TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGDFDLGRFNNLRILVERNLYVTGFVNRINNRYFADFVSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSITTSYALMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIRGERTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAJLNCHHHAASA AAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 539</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 252</p>	<p>MQVQLVQSGAELVPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGQGLEW IGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR AQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGEKVTMTCRASSVSYMHWYQQKPGSSPKWIYATSNLASCVPARFSG SGSGTSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPITFGATKLELKEFPKSTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNNLRILVERNLYVTGFVNRINNRY RFADFVSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSITTSYAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGERTLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAJLNSHH HASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 540</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 253</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFTSYNVHWVVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGKPGSGEGSQVLSQSPHTLS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFPKPTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRRTNNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 541</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 254</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFTSYNVHWVVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGKPGSGEGSQVLSQSPHTLS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFPKPTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRRTNNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 542</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 255</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFTSYNVHWVVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGKPGSGEGSQVLSQSPHTLS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLELKEFPKPTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRRTNNVF YRFADFHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 550</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 263</p>	<p>PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVF YRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAAKDEL MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLMQVQLQPGAELVNPGASVKMSCKTSGYFTTSY NVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYM QLSSLTSEDSAVYCARSNYYGSSYVWFFDVGAGTTTVSSSGTSGSGK PGSGEGSQIVLSQSPHLSASPEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKP WYATSNLASGVPARFSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYCYCQQWISNPPTF GAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 551</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 264</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAW YQKPGNAPRLLISGATSLGTGVPFRFSGSGKDYTLSTLQTEDVATYY CQQYWSPTFTGGGKLEIKGTSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQR LSITCTVSGFSLISYGVHWVVRQSPGKLEWLVGIWRGGSIDYNAAFMSRLS ITKDNSKSQVFFKMNLSLQADDTAIYFCAKTLITTYAMDYWGQGTTVTVS S</p>

SEQ ID NO 552	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 265	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIELTQSPSSFSVSLGDRVTHITCKASEDIYNRLAW YQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKDYTLTSLTQTIEDVATYY CQYWSIPTFGGKLEIKGTSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQR LSITCTVSGFLISYGVHWVRQSPKGLEWLVGIWRGGSTDYNAAFMSRLS ITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIFYCAKTLITTYAMDYWGQGTITVTVS S</p>
SEQ ID NO 553	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 266	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTHICRASQDVNTAVA WYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGRTDFLTISLQPEDFATY YCCQHYTTPPTFGQTKVEIKRTGTSKSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFKNIKDTYIHVVRQAPKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVSS</p>
SEQ ID NO 554	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 267	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTHICRASQDVNTAVA WYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGRTDFLTISLQPEDFATY YCCQHYTTPPTFGQTKVEIKRTGTSKSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGFKNIKDTYIHVVRQAPKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 555</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 268</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNSNGNT YLYWFLQRPQSPQLLIYRMSNLAGVPPDRFSGSGGTAFILRISRVEAED VGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGSEVQLQSQSGPE LIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFD YWGQGTTLTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 556</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 269</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNSNGNT YLYWFLQRPQSPQLLIYRMSNLAGVPPDRFSGSGGTAFILRISRVEAED VGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGSEVQLQSQSGPE LIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFD YWGQGTTLTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 557</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 270</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQLTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFQQRPGQSPRLLIYTVSNRFSGVPPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPPFTGAGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGGVQLQSQSG SELKPGASVKVCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTGE PTFDDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLLKADDTAVYFCSRSRGKNEAWFA YWGQGTTLTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 558</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 271</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQLTQSPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFOQRPGQSPRLLYTVSNRFSGVDPDRFSGSGTDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPPFAGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKQVQLQSQSG SELKPGASVKVSKKASGYTFTNYGVNWKAPGQGLQWGMWINPTGE PTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWFA YWGQGTLVTVVSS</p>
<p>SEQ ID NO 559</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 272</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAAHHSED PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLLQMNS LKPEDTAVVYCKRFRATAAQGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 560</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 273</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVFYRFADFHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPKST PPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLLQMNS LKPEDTAVVYCKRFRATAAQGTIDYWGQGTQVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 561</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 274</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQJRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHHASAVAAAHSE PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYQLQMNS LKPEDTAVYYCKRFRFAAOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 562</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 275</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQJRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHHASAVAAEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYQLQMNS LKPEDTAVYYCKRFRFAAOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 563</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 276</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQJRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHHASAVAAEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLASVSDVPRDLEVVAATPTSLISWCRCRQCADSYR ITYGETGGNSPVQEFVPGSWKATISGLKPGVDYTTITVYVYVTHYYGWDR YSHIPISINYRTIGS</p>
<p>SEQ ID NO 564</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 277</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQJRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHHASAVAAEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTS LVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDGVPARFSGSGGIDFSLTHPVEEDDI AMYFCQQRVVPYTFGGGKLEIKGGGGSEVQLQSQGPELVKPGASVKMS CKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPENNDCTKYNEMFKGKAT LTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTILVTVSA</p>

SEQ ID NO 565	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 278	<p>VTEHDTLLYKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLF AVDILGDFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFS HVTFFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMESHG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASVYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAV AAEPKPSITPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGIDFTFTISSLQPEDIAIYY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRRPSQTLSTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSS</p>
SEQ ID NO 566	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 279	<p>GLDRNSGNYKEFTILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLF AVDILGDFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFS HVTFFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMESHG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASVYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAV AAEPKPSITPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGIDFTFTISSLQPEDIAIYY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRRPSQTLSTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSS</p>
SEQ ID NO 567	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 280	<p>GVMTRGRKKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLF AVDILGDFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFS HVTFFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMESHG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASVYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAV AAEPKPSITPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTKASEDIYNRLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGIDFTFTISSLQPEDIAIYY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRRPSQTLSTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTVSS</p>

SEQ ID NO 568	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 281	<p>VYALPLKMLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLEFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNAFYRFADFS HVTFFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHSHG TSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGSDTFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGGQTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVS GFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNS KNOVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQSLVTVSS</p>
SEQ ID NO 569	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 282	<p>NLVPMVAVTVEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGSDTFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGGQTKVEIKGGGSGGKPGSGGKPGSGGKPGSGGKPGSLV RPSQTL SLTCTVS GFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQ SLVTVSS</p>
SEQ ID NO 570	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 283	<p>GILGFVFTLAEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLEFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNAFYRFADFS HVTFFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHS TSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGSDTFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGGQTKVEIKGGTSGKPGSGGKPGSGGKPGSLV RPSQTL SLTCTVS GFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQ SLVTVS</p>

<p>SEQ ID NO 571</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 284</p>	<p>DIQMTQSPSSLASVGDVRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQHYTTPPTFGQGTKV EIKRTGSTSGKPGSGEGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFKIKDT YIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGGQGLTVTSSEFPKSTPPGS SGGAPGILGFVTLKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNAFY RFADESHVTFPGTTAVILSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 572</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 285</p>	<p>QVQLQQPQGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTSYNVHVVVKQTPGQGLEWIG AIYPGNGDTSFNQKFKGKATLADKSSSTVYMQLSLSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGTSKPGSGEGEVQLVSPSTILSAS PGEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCCQWISNPPITGAGTKLEKKEFPKSTPPG SSGGAPGILGFVTLKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNAFY RFADESHVTFPGTTAVILSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNSHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 573</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 286</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFILGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYALMESHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVAILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDVRVITTCRASQDVNTAVAWYQQKPKGK PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGTDFTTISLQPEDIATYCCQHYTTPPTFG TFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVPRPSQTLSTCTVSGFSLTSGYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKQVSLRLLSS VTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGGQSLTVTSSEFPKSTPPGS</p>

SEQ ID NO 574	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 287	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASAAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFISSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRRPSQTLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSNLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 575	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 288	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASAAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFISSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRRPSQTLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSQYDPVAALF</p>
SEQ ID NO 576	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 289	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASAAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFISSLQPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRRPSQTLTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS�TVSSCLGGLTMV</p>

SEQ ID NO 577	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 290	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQJQRGFRFTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDVRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTTIISSLOPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVH WVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRLSS VTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGOGSLVTVSSILRGSVAHK</p>
SEQ ID NO 578	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 291	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQJQRGFRFTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDVRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPGKA PKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTTIISSLOPEDIAITYCQQYWSNPY TFGQGTKVEIKGSTSGSKPGSGEGSTKQVQLQESGPGLVRRPSQTLSTCT VSGFSLTSYGVHVVRRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKD NSKNQVSLRLSSVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGOGSLVTVSSNLV PMVATV</p>
SEQ ID NO 579	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 292	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQJQRGFRFTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAEFPKPSTP PGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDVRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLOPEDIAITYCQQHYTTP PTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFNIKDTYI HWVROAPGKCLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQM NSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGITLVTVSSNLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 580	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 293	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPS PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDSWIHWRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYYCQOYL YHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
SEQ ID NO 581	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 294	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPS PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDSWIHWRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYYCQOYL YHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
SEQ ID NO 582	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 295	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFPKPS PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSDSWIHWRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTA VYYCARRHWPGGFYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVTAVAWYQQKPKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYYCQOYL YHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 583</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 296</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYREADFHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSCGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFSTSYNMHWVKQTP GQGLEWIGAIYPCNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSA VYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGGTSGSGKPGSGEGSQIVL SQSPTILSAPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLAS GVPARFSGSGSTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLEIK NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 584</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 297</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYREADFHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSCGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFSTSYNMHWVKQTP GQGLEWIGAIYPCNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARAQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGSDIVLSQSPAILASPG EKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLEIKNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 585</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 298</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYREADFHVTFPGTTA VTLSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSCGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVAAEFKPKSTP PGSSGGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFSTSYNMHWVKQTP GRGLEWIGAIYPCNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA VYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSSGGTSGSGKPGSGEGSTKQOI VLSQSPAILASPGEKVTMTCRASSSVYIHWYFQQKPGSSPKPWYATSNLA SGVPRFSGSGSTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLEIK NLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 586</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 299</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPKSTP PGSSGGAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFISINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVVY CKRFRATAAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHHSEDNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 587</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 300</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAEFKPKSTP PGSSGGAPDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAP RLISGATSLETGVPSPRFSGSGKDYTLSTISLQTEDVATYYCQQYWSIPT FGGGTKLEIKGSTSGSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFS LISYGVHWVVRQSPGKGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNSKSQV FFKMNSLQADDTAIFYCAKTLITITGYAMDYWGQGTITVTVSSNLVPMVAT V</p>
<p>SEQ ID NO 588</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 301</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSDSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLDLGGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASA VAAHHSEDP SSKAPKAPEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFISINTMGWYRQAPGK QRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVVY CKRFRATAAQGTIDYWGQGTQVTVSSNLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 589</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 302</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLA VSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPKLLIYA ASSVD SGVPARFSGSGGTD FSLTHPVEEDDIAM YFCQQS RRVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNGTKYNEMFKGKATLTSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGLVTVTSANLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 590</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 303</p>	<p>ASVSDVPRDLEVV AATPTSLISWCRQRCADSYRITYGETGGNSPVQEFV PGSWKTATISGLKPGVDYTIIVYVVTTHY YGWDRY SHPISIN YRTGSEFPKPS TPPGSSGGAPKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAANLVPMVATVNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 591</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 304</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVAR AMLRFTVTAEALRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKSTP PGSSGGAPDIVLTQSPASLA VSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPKLLIYA ASSVD SGVPARFSGSGGTD FSLTHPVEEDDIAM YFCQQS RRVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNGTKYNEMFKGKATLTSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGLVTVTSANLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 592	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 305	<p>NLVPMVAVTVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRINNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASEDIYNRLLTWYQQKP GKAPKLLISGATSLETGVPFRSFGSGGTDFTTSSLQPEDIATYYCQQYWS NPYTFQCGTKVEIKGGGGSVQLQESGPGLVPRSQTLSLCTVSGFSLTSY GVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGGGSLVTVSS</p>
SEQ ID NO 593	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 306	<p>NLVPMVAVTVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRINNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKSTPPGGSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASEDIYNRLLT WYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPFRSFGSGGTDFTTSSLQPEDIATYY CQQYWSNPYTFQCGTKVEIKGSTSGSKPGSGEGTKQVQLQESGPGLV RPSQTLSLCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRLESSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGGG SLVTVSS</p>
SEQ ID NO 594	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 307	<p>NLVPMVAVTVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRINNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLESSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VAAEFKPKSTPPGGSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQDVNTAV AWYQQKPKGAPKLLIYSAFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFAT YYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCA ASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARLYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 595</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 308</p>	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLF AVDILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFS HVTFFPGTTA VTL S ADSSY T T L Q R V A G I S R T G M Q I N R H S L T T S Y L A L M S H S G T S L T Q S V A R A M L R F V T V T A E A L R F R Q I R G F R T T L D D L S G A S Y V M T A E D V D L T L N W G R L S S V L P D Y H G Q D S V R V G R I S F G S I N A I L G S V A L I L N S H H H A S A V A A E F F K P S T P P G S S G G A P E V Q L V E S G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S D S W I H W V R Q A P G K G L E W V A W I S P Y G G S T Y Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R R H W P G G F D Y W G Q G I L V T V S S G G G G S G G G G G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T I C R A S Q D V S T A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S A S F L Y S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y L Y H P A T F G Q G I K V E I K</p>
<p>SEQ ID NO 596</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 309</p>	<p>NL V P M V A T V K E F T L D F S T A K T Y V D S L N V I R S A I G T P L Q T I S S G G T S L L M I D S G I G D N L F A V D I L G F D F T L G R F N N R L I V E R N N L Y V T G F V N R T N N A F Y R F A D F S H V T F P G T T A V T L S A D S S Y T T L Q R V A G I S R T G M Q I N R H S L T T S Y L A L M S H S G T S L T Q S V A R A M L R F V T V T A E A L R F R Q I R G F R T T L D D L S G A S Y V M T A E D V D L T L N W G R L S S V L P D Y H G Q D S V R V G R I S F G S I N A I L G S V A L I L N S H H H A S A V A A G G G S G G D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T I C R A S Q I S S W L A W Y Q Q K P E K A P K S L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y N S Y P Y T F G Q G T K L E I K G G G S Q V Q L V O S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y D V H W V R Q A P G Q R L E W M G W L H A D T G I T K F S Q K F Q G R V T I R D T S A S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E R I Q L W F D Y W G Q G I L V T V S S</p>
<p>SEQ ID NO 597</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 310</p>	<p>NL V P M V A T V K E F T L D F S T A K T Y V D S L N V I R S A I G T P L Q T I S S G G T S L L M I D S G I G D N L F A V D I L G F D F T L G R F N N R L I V E R N N L Y V T G F V N R T N N A F Y R F A D F S H V T F P G T T A V T L S A D S S Y T T L Q R V A G I S R T G M Q I N R H S L T T S Y L A L M S H S G T S L T Q S V A R A M L R F V T V T A E A L R F R Q I R G F R T T L D D L S G A S Y V M T A E D V D L T L N W G R L S S V L P D Y H G Q D S V R V G R I S F G S I N A I L G S V A L I L N S H H H A S A V A A E F F K P S T P P G S S G G A P D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T T I C K A S E D I Y N R L T W Y Q Q K P G K A P K L L I S G A T S L E T G V P S R F S G S G S G T D F T I S S L Q P E D I A T Y Y C Q Q Y W S N P Y T F G Q G T K V E I K G G G S Q V Q L Q E S G P G L V R P S Q I L S L T C T V S G F S L T S Y G V H W V R O P P G R G L E W I G V M W R G G S T D Y N A A F M S R L N I T K D N S K N Q V S L R L S S V T A A D T A V Y Y C A K S M I T T G F V M D S W G Q G S L V T V S S</p>

<p>SEQ ID NO 598</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 311</p>	<p>NLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGDQSVRVRGRISFGSINAILGVALILNSHHHASA VAAEFPKSTPPGSSGAPVQLQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSY NVHWVKQTPGGGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYM QLSSLTSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSGK PGSGEGSQIVLSQSPHTLSASPGEEKVTMTCRASSSVSYMIDWYQKPKGSSPKP WIYATSNLASGVPARFSGSGSGTYSLSITSRVEAEDAATYYCQQWISNPPTF GAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 599</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 312</p>	<p>NLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGDQSVRVRGRISFGSINAILGVALILNSHHHASA VAAGGGSGGQVQLVQSGAEELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVK QTPGGGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYYCARAQLRPNYWYFDVWGAGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGG GGGGGGSDIVLSQSPAILASPGEEKVTMTCRASSSVSYMHWYQKPKGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTYSLSITSRVEAEDAATYYCQQWISNP PTFGAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 600</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 313</p>	<p>APTSSSTKKTQLQLEHLDDLQMIHLNGINNYKPKLTRMLTFKFFMPKKA T ELKHLQCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIIVLELKGSETTF MCEYADETATIVFEFLNRWITFCQSHSITLFEFPKPSPPGSSGGAPNLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGDQSVRVRGRISFGSINAILGVALILNSHHHASA VAAA</p>

<p>SEQ ID NO 601</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 314</p>	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGI GDNLF AVDILGFDFTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFS HVTFPGTTAVTL SADSSTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRQFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAV AAFFPKSTPPGSSGGAPAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNP KLTRMLTFKFMPPKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDL ISNINVILELKGSEITFMCEYADETATVFEFLNRWITFCOSHSILT MNLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFA DFHVTFPGTTAVTL SADSSTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRQFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAFFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLQVPSRFSGSGTDFTTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTVEIKGTSVGRVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNA RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQG SLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 602</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 315</p>	<p>MNLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFA DFHVTFPGTTAVTL SADSSTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRQFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAFFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLQVPSRFSGSGTDFTTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTVEIKGTSVGRVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNA RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQG SLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 603</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 316</p>	<p>MNLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMID SGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFA DFHVTFPGTTAVTL SADSSTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRQFRITLDDLSGASYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAFFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLQVPSRFSGSGTDFTTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTVEIKGTSVGRVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNA RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQG SLVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 604</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 317</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTTSSLOPEDIATYCCQYWSNP YTFGQGTKVEIKGSTSGSGKPGSGESTKGVQVQLESQGLVRPSQTLSLT CTVSGFSLTSYGVHVVRRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRLSSVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 605</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 318</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTTSSLOPEDIATYCCQYWSNP YTFGQGTKVEIKGSTSGSGKPGSGESTKGVQVQLESQGLVRPSQTLSLT CTVSGFSLTSYGVHVVRRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRLSSVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS NLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 606</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 319</p>	<p>MGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GIGDNLFAVDILGDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSH GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLGSASYVMTAED VDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASA VA AEFKPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTTSSLOPEDIATY CCQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGSGKPGSGESTKGVQVQLESQGLV RPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHVVRRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNSKNQVSLRLSSVTAADTA VYYCAKSMITTFVMDSWGQGS SLVTVSS</p>

SEQ ID NO 607	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 320	<p>MDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGSTSGSKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK DTYIHVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGGQTLVTVSSEFPKPTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTILQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDLDLSCASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALINSHH HASAVAA</p>
SEQ ID NO 608	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 321	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFEDVWGAGTTVTVSSGTSKSGKPGSGEGSQIVLSQSPITLS ASPGKEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNL ASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPTFGAGTKLELKEFPKPTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNAF YRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTILQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDLDLSCASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALINLS HHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 609	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 322	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSDSSYTTILQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDLDLSCASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALINSHHSAVA AEFKPKPT PPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSAFSLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTP PTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI HWVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ NSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGGQTLVTVSSNLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 610	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 323	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGEDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARRHWPGGFDYWGQGTILVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPKGAPKLLI YSASFLYSGVPSRFRSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
SEQ ID NO 611	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 324	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGEDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARRHWPGGFDYWGQGTILVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPKGAPKLLI YSASFLYSGVPSRFRSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>
SEQ ID NO 612	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 325	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGEDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAVA AEFKPKST PPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVVRQAPG KGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCARRHWPGGFDYWGQGTILVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPKGAPKLLI YSASFLYSGVPSRFRSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLHPATFGQ GTKVEIKGILGFVFTL</p>

SEQ ID NO 613	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 326	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMHSHTSLTQSV RAMLRFVTVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHHASA VAAEFKPKST PPSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASEDIYNRLTWYQQKPKG APKLLISGATSLETGVPFRFSGSGTDFTFITSSLOPEDIAITYYCOQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVPRPSTLSTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSIDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLVTSSNLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 614	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 327	<p>QVQLQQPGAELVKPGASVNMCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGQIVLSQPTILSAS PGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLELKEFPKSTPPG SSGGAPGILGFVTLKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLA MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHH HASA VAA</p>
SEQ ID NO 615	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 328	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVNMCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGQIVLSQPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLELKEFPKSTP PGSSGGAPGILGFVTLKFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGT LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFY YRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLA LMSHSTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVM MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNS HHASA VAA</p>

SEQ ID NO 616	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 329	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGDREVTTTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGSTSGSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNK DTYIHVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYCSRWGGDGFYAMDVWGQGTLVTVSSEFPKPTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNAFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLAL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 617	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 330	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGDREVTTTCRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFRSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYCCQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGSTSGSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNK DTYIHVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYCSRWGGDGFYAMDVWGQGTLVTVSSEFPKPTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNAFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLAL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 618	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 331	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTTTCCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPSRFRSGSGKDYTLSHLSLQTEDVATYCCQYWSIPTFGGGTK LEIKGSTSGSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVRRQSPGKGLEWLVWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNSKQVFFKMN SLQADDTAIYFCAKTLITTYAMDYWGQGTTVTVSSEFPKPTPPGSSGGA PGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSG IGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNAFYRFADFS HVTPEGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMHSHG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHASAV AAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 619</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 332</p>	<p>MDIELTQSPSSFVSLSGDRVTTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPFRFSGSGGKDYTLSTLSLQIEDVATYYCQQYQYWSPTFFGGGK LEIKGSTSGSKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSORLSHTCTVSGFSLISYGV HWVRQSPGKGLEWLGVIWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKQVFFKMN SLQADDTAIYFCAKTLITTYAMDYWGQGITTVVSSEFPKSTPPGSSGGA PGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGIPLQTISSGGTSLLMIDSG IGDNLFAVDILGDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFS HVTFFPGTTAVTILSADSSYTTILQRVAGISRIGMQRHSLTTSYALMESHG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAV AAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 620</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 333</p>	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISSCRSSKLLNSNGNTLYWFLQRPQSPQL LIYRMSNLASGVDPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFT FGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGSEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YFTTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKS SSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYSRVDYWGQGTTLTVSSAEFF KPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGIPLQTI SGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNR TNNAFYRFADFSHTVTPGTTAVTILSADSSYTTILQRVAGISRIGMQRHSLT TSYALMESHGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSG ASYVMTAEDVDLTILNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVAL ILNSHHHSAVAAKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 621</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 334</p>	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISSCRSSKLLNSNGNTLYWFLQRPQSPQL LIYRMSNLASGVDPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFT FGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGSEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YFTTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSDKS SSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYSRVDYWGQGTTLTVSSAEFF KPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGIPLQTI SGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNR TNNAFYRFADFSHTVTPGTTAVTILSADSSYTTILQRVAGISRIGMQRHSLT TSYALMESHGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSG ASYVMTAEDVDLTILNWGRLLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVAL ILNSHHHSAVAAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 622</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 335</p>	<p>MDIQLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFOQRPGQSPRL LIYTVSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSSSHVPPFTFG AGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVQLQQSGSELKPKGASVKVSCKAS GYTFTNYGVNWIQAPGQGLQWGWINPNTGPTFDDDDKGRFAFSLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWFAFWGQGTLVTVSSEFPKPS TPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNN AFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSY LALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASY VMTAEDVDLTLNHWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILN SHHHASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 623</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 336</p>	<p>MDIQLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFOQRPGQSPRL LIYTVSNRFSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSSSHVPPFTFG AGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVQLQQSGSELKPKGASVKVSCKAS GYTFTNYGVNWIQAPGQGLQWGWINPNTGPTFDDDDKGRFAFSLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWFAFWGQGTLVTVSSEFPKPS TPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNN AFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSY LALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASY VMTAEDVDLTLNHWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILN SHHHASAVA AKDEL</p>
<p>SEQ ID NO 624</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 337</p>	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGTFSSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTDYWGQGTQVTVSSAHHSEDPSSKAPKAPGILGFVFTLKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLG RFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNAFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSADSS YTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNHWGRLLSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILN SHHHASAVA AKDEL</p>

SEQ ID NO 625	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 338	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGHTFISINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRT AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKPSPPGSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLG RFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPGTTAVTLSADSS YTILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMESHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 626	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 339	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGHTFISINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRT AAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHSEDPSSKAPKAPGILGFVTLGILGFVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMESHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 627	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 340	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGHTFISINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRT AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKPSPPGSSGGAPGILGFVTLGILGFVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPGTTA VTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMESHSGTSLTQSVAR AMLRFVTVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 628	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 341	<p>MAPTSSSTKKTQLQLEHLLDQLMILNGINNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKK ATELKHLOCLEEELKPLEEVNLAAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETT FMCEYADETATIVFEFLNRWITFCQSHISLTTEFPKPSIPPGSSGGAPGILGFV TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGFDFTLGRFNNLRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPG TTAVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMESHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLL SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASAVAAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 629</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 342</p>	<p>MAPTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIILNGINNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPDLISNINVVLELKGSETT FMCEYADETATIVFELNRWITFCQSHISTLFEFPKSTPPGSSGGAPGILGFVF TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFHVITFPG TTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHSHTSLSLTSQSV ARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AKDEL MQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHVVKQTPGQGLEW IGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR AQLRPNYWFYFDVWGAGITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFSG SGSGTSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKLEKFPKSTPP GSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFY RFADFHVITFPGTTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MHSHTSLSLTSQSVARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA MQVQLQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQIFGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFYFDVWGAGITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSDIVLSQSPILS ASPGKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKLEKFPKSTP PGSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFY YRFADFHVITFPGTTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMHSHTSLSLTSQSVARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 630</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 343</p>	<p>MAPTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIILNGINNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPDLISNINVVLELKGSETT FMCEYADETATIVFELNRWITFCQSHISTLFEFPKSTPPGSSGGAPGILGFVF TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFHVITFPG TTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHSHTSLSLTSQSV ARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AKDEL MQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHVVKQTPGQGLEW IGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR AQLRPNYWFYFDVWGAGITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFSG SGSGTSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKLEKFPKSTPP GSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFY RFADFHVITFPGTTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MHSHTSLSLTSQSVARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA MQVQLQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQIFGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFYFDVWGAGITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSDIVLSQSPILS ASPGKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKLEKFPKSTP PGSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFY YRFADFHVITFPGTTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMHSHTSLSLTSQSVARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 631</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 344</p>	<p>MAPTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMIILNGINNYKNPKLTRMLTFKIFYMPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPDLISNINVVLELKGSETT FMCEYADETATIVFELNRWITFCQSHISTLFEFPKSTPPGSSGGAPGILGFVF TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGIGDNLFA VDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFHVITFPG TTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMHSHTSLSLTSQSV ARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AKDEL MQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHVVKQTPGQGLEW IGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAR AQLRPNYWFYFDVWGAGITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFSG SGSGTSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKLEKFPKSTPP GSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFY RFADFHVITFPGTTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLAL MHSHTSLSLTSQSVARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHH HASAVAA MQVQLQPGAEELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQIFGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFYFDVWGAGITVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSDIVLSQSPILS ASPGKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPTFGAGTKLEKLEKFPKSTP PGSSGGAPGILGFVTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFILGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFY YRFADFHVITFPGTTAVTLADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMHSHTSLSLTSQSVARAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>

SEQ ID NO 632	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 345	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSP TILS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNAF YRFADFESHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALFRQIQRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 633	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 346	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSP TILS ASPGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFKPSTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNAF YRFADFESHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALFRQIQRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 634	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 347	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHWVKQTPGRGLEW IGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYCAR STYYGGDWYFNWVGAGTTVTVSAGTSCSGKPGSGEGSTKQIVLSQSPA ILSASPGEKVTMTCRASSVSYIHWFOQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARF SCSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPFTGGTKLELKEFKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGT SLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNA FYRFADFESHVTFPGTTAVTILSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYL ALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALFRQIQRGFRITLDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNS HHHASAVAA</p>

SEQ ID NO 635	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 348	<p>MEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVVRQAPGKGLEW VSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRRAEDTALYYCAK DIQYGNYYGMDVWVGQGTIVTVSSGTSVSGKPGSGEGSEIVLTQSPATLS LSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFS GSGSGTIDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPIITFGQTRLEIKFEFKPSTPP GSSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNAFY RFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLAL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNSHH HASAVAA</p>
SEQ ID NO 636	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 349	<p>MEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRAITGIPARFSGSGGTDFLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPIITFGQGT RLEIKGG SCAASGFTFNDYAMHWVVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTI SRDNAAKKSLLYQMNSLRRAEDTALYYCAKDIQYGNYYGMDVWVGQGTIV TVSSEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIG TPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYV TGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQORVAGISRTGMQ INRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIRGFRIT LDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAL LGSVALILNSHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 637	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 350	<p>MQIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYAP SNLASGVPARFSGSGTYSLSISRVEAEDAATYYCQQWTFNPTFGAGT KLELKSQGG KMCKKASGYTFTSYNMHWVKQTPRQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGK ATLTVDKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYFCARVVVYYSNSYWYFDVWGTGTT VTVSEFPKPTPPGSSGGILGFVFLGAPKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAI GTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLY VTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQORVAGISRTGM QINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIRGFR TTLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSIN AILGSVALILNSHHASAVAA</p>

SEQ ID NO 638	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 351	<p>MQAYLQQSGAELVRPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVVKQTPRQGLEWI GAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAR VVYYSNSYWFYFDVWGTGTTVTVSGTSGSGKPGSGEGSQIVLSQPAILSA SPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPGSSPKPWYAPSNLASGVPARFSG SSGTYSLTSRVEAEDAATYYCQWQSFNPTFGAGTKLELKEFPKPTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAF YRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAELFRQIQRGFRTILDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAAA</p>
SEQ ID NO 639	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 352	<p>ASVSDVPRDLEVAAAPTSLILSWCRQRCADSYRITYGETGGNSPVQEFTV PGSWKTAITISGLKPGVDYTTIVYVTHYYGWDRYSHPIINRYRTGSEFPKPS TPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGG TSLLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNN AFYRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSY LALMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAELFRQIQRGFRTILDDLSGASY VMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILN SHHHASAVAAANLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 640	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 353	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFISYNVHWVVKQTPRQGLEWI GAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTVDKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYFCARS NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPITLS ASPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTSRVEAEDAATYYCQWQSFNPTFGAGTKLELKEFPKPTP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGIGDNLFAVDILGFDFTLGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAF YRFADFSHVTFPGTTAVTILSADSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLA LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVAELFRQIQRGFRTILDDLSGASYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNS HHHASAVAAKDEL</p>

SEQ ID NO 641	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 354	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLMQVQLQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFSTY NVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGATLTADKSSSTVYM QLSSTSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVGAGITTVTVSSGTSVSGSGK PGSGEGSQIVLSQSPHLSASPEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSSPKP WIYATSNLASGVPARFSGSGGTSTSLTISRVEAEDAATYYCCQWISNPTF GAGTKLELK</p>
SEQ ID NO 642	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 355	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDIELTQSPSSFSVSLGDRVTHICKASEDIYNRLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLTIGVPSRFSGSGGKDYTLSTLSQTEDVATYY CQYWSPTFTGGGKLEIKGTSVSGGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQR LSITCTVSGFSLISYGVHWVVRQSPGKGLEWLVGIWRGGSTIDYNAAFMSRLS ITKDNSKSQLVFFKMNLSLQADDTAIFYCAKTLITTYGAMDYWGQGTITVTVS S</p>
SEQ ID NO 643	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 356	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQQRGFRITLDDLGSASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHASAVA AEFKPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDIELTQSPSSFSVSLGDRVTHICKASEDIYNRLAW YQQKPGNAPRLLISGATSLTIGVPSRFSGSGGKDYTLSTLSQTEDVATYY CQYWSPTFTGGGKLEIKGTSVSGGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQR LSITCTVSGFSLISYGVHWVVRQSPGKGLEWLVGIWRGGSTIDYNAAFMSRLS ITKDNSKSQLVFFKMNLSLQADDTAIFYCAKTLITTYGAMDYWGQGTITVTVS S</p>

<p>SEQ ID NO 644</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 357</p>	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAVAAEFFPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVA WYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDEFATY YCOQHYTTPPTFGQGTKEIKRTGTSGGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGSLRLSCAAASGFENIKDITYHWRVQRAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVVSS</p>
<p>SEQ ID NO 645</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 358</p>	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAVAAEFFPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTAVA WYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDEFATY YCOQHYTTPPTFGQGTKEIKRTGTSGGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQ PGSLRLSCAAASGFENIKDITYHWRVQRAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADS VKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVG QGTLVTVVSS</p>
<p>SEQ ID NO 646</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 359</p>	<p>MKEFFILDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGDFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAVAAEFFPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLDIVMTQAAPSPVTPGESVSISSCRSSKLLNSNGNT YLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSNLAGVPPDRFSGSGGTFTLRISRVEAED VGVVYCMOHLEYPPTFGAGTKLEKSTSGKPGSGEGSEVQLQQSGPE LIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYGSRVFD YWGQGTTLTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 647</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 360</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAVAAEFFPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDIVMTQAAPSIPVTPGESVSISCRSSKLLNSNGNT YLYWFLQRPQQSPQLLIYRMSNLAGVPPDRFSGSGGTAFTRISRVEAED VGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGSEVQLQQSQGE LIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGTYYYGSRVFD YWGQGTILVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 648</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 361</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAVAAEFFPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDQLTQSPSLPVTLGPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFQQRPQQSPRLLIYTVSNRFSVPPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPPTFGAGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVVQLQQSQG SELKKPGASVKVSKKASGYTFTNYGVNWKQAPGQCLQWGMWINPNTGE PTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCSRSRGRKNEAWFA YWGQGTILVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 649</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 362</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHSAVAAEFFPKPST PPGSSGGAPGILGFVFTLIDQLTQSPSLPVTLGPASISCRSSQSLVHRNGN TYLHWFQQRPQQSPRLLIYTVSNRFSVPPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAED VGVYFCSQSSHVPPTFGAGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVVQLQQSQG SELKKPGASVKVSKKASGYTFTNYGVNWKQAPGQCLQWGMWINPNTGE PTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCSRSRGRKNEAWFA YWGQGTILVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 650</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 363</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAAHSE PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYVLQMN LKPEDTAVYYCKRFRFTA AOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 651</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 364</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYVLQMN LKPEDTAVYYCKRFRFTA AOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 652</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 365</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAAHSE PSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYVLQMN LKPEDTAVYYCKRFRFTA AOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 653</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 366</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRRTNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNSHHHASA VAAAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLSCAASGITFSINTM GWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYVLQMN LKPEDTAVYYCKRFRFTA AOGTIDYWGQGTQVTVSS</p>

SEQ ID NO 654	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 367	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALJLNSHHHSASA AAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLIDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTS LVQWYQQKPGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDFSLTIHPVEEDDI AMYFCQQRRVPYTFGGGKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMS CKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNGTKYNEMFKGKAT LTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLLVTVSA</p>
SEQ ID NO 655	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 368	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAV DILGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLALMSHSGTSLTQSV RAMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALJLNSHHHSASA AAEFPKPS PPGSSGGAPGILGFVFTLIDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTS LVQWYQQKPGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDFSLTIHPVEEDDI AMYFCQQRRVPYTFGGGKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMS CKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNGTKYNEMFKGKAT LTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLLVTVSA</p>
SEQ ID NO 656	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 369	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGIGDNLFAVDI LGFDFTLGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNAFYRFADFESHVTFPGTTA VTLADSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVAR AMLRFVVTAEALRFRQIRGFRITLDDLSGASYVMTAEDVDLTLNWGR SSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALJLNSHHHSASA AAEFPKPS PPGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQQK PGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDFSLTIHPVEEDDIAMVFCQQS RRVPYTFGGGKLEIKGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTF TSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNGTKYNEMFKGKATLTSDKSSST AYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLLVTVSANLVPMVAIV</p>

SEQ ID NO 657	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 370	<p>VTEHDTLLYKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG SGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADF SHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLRGTGPRFSGSGGIDFTFTISSLQPEDIAITY CQYWSNPYTFGGQTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLTVSS</p>
SEQ ID NO 658	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 371	<p>GLDRNSGNYKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSG SGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADF SHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLRGTGPRFSGSGGIDFTFTISSLQPEDIAITY CQYWSNPYTFGGQTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLTVSS</p>
SEQ ID NO 659	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 372	<p>GVMTRGRLLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGS GDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFS HVTFFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHA VAAEFPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLRGTGPRFSGSGGIDFTFTISSLQPEDIAITY CQYWSNPYTFGGQTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRSQTLSLTCTVS GFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSLLTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 660</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 373</p>	<p>VYALPLKMLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSG SGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADF SHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLTGVPSRFGSGGIDFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGGGSSQVQLQESGPGLVRPSTLSTCTVS GFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNS KNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQSLVTVSS NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDS GSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADF FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRL TWYQQKPGKAPKLLISGATSLTGVPSRFGSGGIDFTFTISSLQPEDIAITY YCQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGV VRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQ GSLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 661</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 374</p>	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGS GDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFS HVTFFGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLTGVPSRFGSGGIDFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQ SLVTVS</p>
<p>SEQ ID NO 662</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 375</p>	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGS GDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFS HVTFFGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHA VAAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRLT WYQQKPGKAPKLLISGATSLTGVPSRFGSGGIDFTFTISSLQPEDIAITY CQQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGV RPSQTLSTCTVSGFSLTSYGVHWRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA FMSRLNITKDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQ SLVTVS</p>

SEQ ID NO 663	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 376	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGKAPKLLIYSA SFLYSGVPSRFSGSRSGTIDFTLTISSLQPEDFATYYCQHQHYTTPPTFGQGTKV EIKRTGSTSGSGKPGGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFINIKDT YIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWVWQQGILVTVSSEFPKSTPPGS SGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL MIDSGSDNLFADVIRGIDPEEGFRNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYF RFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYITLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHH HASAVAA</p>
SEQ ID NO 664	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 377	<p>QVQLQQPQGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYNVHWVVKQIPGQGLEWIG AIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSESAVYYCARSN YYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGSTSGKPGGEGSQIVLSQPTILSAS PGEKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASCVPARFSGS GSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTGAGTKLELKEFKPKSTPPG SSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSL MIDSGSDNLFADVIRGIDPEEGFRNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYF RFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYITLQRVAGISRIGMQRHSLTTSYLDL MHSHTSLTQSVARAMLRFVTVAEALRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHH HASAVAA</p>
SEQ ID NO 665	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 378	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLMIDSGSDNLFADV VRGIDPEEGFRNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTT AVTLSGDSSYITLQRVAGISRTGMQRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHSAVAAEFPKPS TPPSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCKASEDIYNRLLTWYQQKPKG APKLLISGATSLETGVPSPRFSGSGTDFITFSSLPEDIATYYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLVSRPSQTLSTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPRGRGLEWIGVWVRGGSDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSL SVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQGSLLVTVSSVTEHDTILLY</p>

SEQ ID NO 666	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 379	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFPPKS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITTKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGIDFTFTISSLQPEDIAIYYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSNLYPMVATV</p>
SEQ ID NO 667	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 380	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFPPKS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITTKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGIDFTFTISSLQPEDIAIYYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSOYDPVAALF</p>
SEQ ID NO 668	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 381	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFPPKS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTVITTKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPFRFSGSGGIDFTFTISSLQPEDIAIYYCQQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGGSQVQLQESGPGLV RPSQTL SLTCTVSGFSLTSYGV HWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTIDYNAAFMSRLNITKDNSKNQVSLRLS SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSSCLGGLTMV</p>

SEQ ID NO 669	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 382	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAVD VRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAASVAAEFPPKS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPFRFSGSGTDFITFISLQPEDIAITYYCOQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGGQVQLQESGPGQVLRPSQTLTCTVSGFSLTSYGV HWVROPPGRGLEWVGMWRGGSDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLRSL SVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVSSILRGSVAHK</p>
SEQ ID NO 670	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 383	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAVD VRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAASVAAEFPPKS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPGK APKLLISGATSLETGVPFRFSGSGTDFITFISLQPEDIAITYYCOQYWSNP YTFGQGTKVEIKGGTSGSGKPGSGEGSTKQVQLQESGPGQLVRPSQTLTSLT CTVSGFSLTSGVHWVROPPGRGLEWVGMWRGGSDYNAAFMSRLNIT KDNSKNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGSVTVSS NLVPMVATV</p>
SEQ ID NO 671	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 384	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAVD VRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAASVAAEFPPKS TPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPG KAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFITFISLQPEDIAITYYCOQHYTT PPTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNIKDTYI HWVROAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQ NSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTILVTVSSNLVPMVATV</p>

SEQ ID NO 672	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 385	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFKPS TPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVROAP GKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDT AVYYCARRHWPGGFDYWGQGITLVTSVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVA WYQOKPKAPKL LIYSAFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQYL YHPATFG QGTNVEIKGILGFVFTL</p>
SEQ ID NO 673	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 386	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFKPS TPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVROAP GKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDT AVYYCARRHWPGGFDYWGQGITLVTSVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVA WYQOKPKAPKL LIYSAFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQYL YHPATFG QGTNVEIKGILGFVFTL</p>
SEQ ID NO 674	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 387	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFESHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFKPS TPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVROAP GKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDT AVYYCARRHWPGGFDYWGQGITLVTSVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVA WYQOKPKAPKL LIYSAFLYSGVPSRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQYL YHPATFG QGTNVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 678</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 391</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRINN VFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHASA VAAEFPKPS TPPGSSGGAPEVOLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAP GKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAV YCKRFRATAAQGTDYWGQGTQVTVSSAHSEDNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 679</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 392</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRINN VFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHASA VAAEFPKPS TPPGSSGGAPEVOLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAP APRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSKDYTLTSLQTEDVATYCYCQYVWST PTFGGKLEIKGSTSGSKPGSGEGSKVQLQESGSLVQPSQRLSITCTVSG FSLISYGVHWVROSPGKLEWLGVWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNSKS QVFFKMNSLQADDTAIFYFCAKTLITTYAMDYWGQGTTVTVSSNLVPMV ATV</p>
<p>SEQ ID NO 680</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 393</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRINN VFYRFADFESHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHASA VAAAHSED PSSKAPKAPEVOLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPG KQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVY YCKRFRATAAQGTDYWGQGTQVTVSSNLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 681</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 394</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAYD VRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRINNVEYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAASA VAAEFKPS TPPGSSGGAPASVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWCRQCADSYRITYGETGG NSPVQEFVPGSWKTATISGLKPGVDYTTITVYVTHYYGWDRYSHPISINY RTGSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 682</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 395</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWCRQCADSYRITYGETGNSPVQEFTV PGSWKTATISGLKPGVDYTTITVYVTHYYGWDRYSHPISINYRTGSEFPKPS TPPGSSGGAPKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAYDVRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRINNVEYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTADALRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAASA VAAANLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 683</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 396</p>	<p>KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAYD VRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRINNVEYRFADFHVTFPGTT AVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV RAMLRFVTVTAELRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAASA VAAEFKPS TPPGSSGGAPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRATESVEYYGTSLVQWYQ QKPGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDFSLTHPVEEDDIAMYFCQ QSRVVPYTFGGGKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGY TFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPENDGTKYNEMFKGKATLTSKSS STAYMELSSLTSEDSAVYCARQAWGYPWQQGTLVTVSANLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 684</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 397</p>	<p>NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAYDVRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRINNVEYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQORVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRFRTLLDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAASA VAAAGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASEDIYNRLTWYQQK PGKAPKLLISGATSLETGVPSPRFRSGSGGTDFITFISSLPEDIAITYCQQYW</p>

<p>SEQ ID NO 685</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 398</p>	<p>SNPYTFGQGTKVEIKGGGSQVQLQESGPGLVRPSSQLSLTCTVSGFSLTSY GVHWVRRQPPGRLEWIGVMWRGGSTDYNAAFMSRLNITKDNKSNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQGS LVTVSS NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS AVAAEFKPTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASEDIYNRL TWYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGGDTFTTSSLOPEDIATY YCQYWSNPYTFGQGTKVEIKGSTSGKPGSGEGTKQVQLQESGPGLV VRPSQTLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRRQPPGRLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNKSNQVSLR LSSVTAADTAVYYCAKSMITTFVMDSWGQ GSLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 686</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 399</p>	<p>NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGVALILNCHHHAS AVAAEFKPTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVNTA VAWYQQKPGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTSSLOPEDFA TYYCQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFNIKDTYIHWVVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISA DTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT LVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 687</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 400</p>	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGS GDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFS HVTFFGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS TSLTQSVARAMLRFVTVAELRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVMTAEDV DLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVVRGRISFGSINAILGVALILNCHHHASA VAAEFKPTPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDS WIHWVVRQAPGKLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLR AEDTAVYYCARRHWPGGFYWGQGT LVTSSGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVSTAVAWY QKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGSGGDTFTLTISSLOPEDFATYCYCQ QYLYHPATFGQGTKVEIK</p>

SEQ ID NO 688	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 401	<p>NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNPFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQK PEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDFTLTSSLQPEDFATYYCQQYN SYPYTFGQGTLEIKGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFT SYDVHWVRAQPGORLEWGMWLHADTGITKFSQKFGQGRVTHTRDTSASTA YMELSSLRSEDTAVYCARERIQWFDYWGGQILVTVSS</p>
SEQ ID NO 689	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 402	<p>NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNPFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAEFKPSITPPGSSGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRL TWYQQKPGKAPKLLISGATSEITGVPSRFSGSGTDFTITSSLQPEDIATY YCQQYWSNPFYTFGQGTLEIKGGGGSQVQLQESGPGLVRPSTLSLTCTV SGFSLTSYGVHWVRAQPGORLEWGMWLHADTGITKFSQKFGQGRVTHTRDTSASTA SKNQVSLRLLSSVTAADTAVYYCARERIQWFDYWGGQILVTVSS</p>
SEQ ID NO 690	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 403	<p>NLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRINNPFYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAEFKPSITPPGSSGAPQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTS YNVHWVKQTPQQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVY MQLSLSLSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVGAGITTVTVSSGTSGSG KPGSGEGSQIVLSQSPITLSAPGKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSP KPWIYATSNLAVGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPP TFGAGTKLELK</p>

<p>SEQ ID NO 691</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 404</p>	<p>NLVPMVAIVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDS GSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFAD FSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHS GTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHSHAS AVAAGGGGGQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWV KQTPGQCLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCARAQLRPNYWFYFDVWGAGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGS GGGGGGGSDIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKPG SSPKRWIYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWIS NPPTFGAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 692</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 405</p>	<p>APTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLIRMLTFKFYMPKKA ELKHLQCLEEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDLISINIVIVLELKGSETTF MCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLEFPKSTPPGSSGGAPNLVPMVA TVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGDNLFA VDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPG TTAATLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNSHHSHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 693</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 406</p>	<p>GILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGS GDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFS HVTFFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDV DDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHSHASAV AAFFPKSTPPGSSGGAPAPTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNP KLIRMLTFKFYMPKKAATELKHLCLEELKPLEEVNLAQSKNFHLRPRDL ISNINIVIVLELKGSETTEMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT</p>

<p>SEQ ID NO 694</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 407</p>	<p>MNLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMID SGGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAEFKPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRL TWYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLOPEDIATY YCQQYWSNPYTFGQGTVEIKGSTSGKPGSGEGSTKGQVQLQESGPGI VRPSQILSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ GSLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 695</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 408</p>	<p>MNLVPMVATVKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMID SGGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFYRFA DFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSH SGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAED VDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHAS AVAAEFKPKSTPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRL TWYQQKPKGAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLOPEDIATY YCQQYWSNPYTFGQGTVEIKGSTSGKPGSGEGSTKGQVQLQESGPGI VRPSQILSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ GSLVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 696</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 409</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTSLLMIDSGSDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNMFYRFAADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAEFKPK STPPGSSGGAPDIQMTQSPSSLASVGDRTTICKASEDIYNRLTWYQQKPG KAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGTDFTFITSSLOPEDIATYCYCQQYWSN PYTFGQGTVEIKGSTSGKPGSGEGSTKGQVQLQESGPGI VRPSQILSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGRGLEWIGVMWRGGSTDYNA AFMSRLNITKDNKSNQVSLRSLSSVTAADTAVYYCAKSMITTFGVMDSWGQ NLVPMVATV</p>

<p>SEQ ID NO 700</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 413</p>	<p>MQVQLQQPGAEIVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSESAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEQIVLSQSPTILSASPGKVTMTCRASSVSVMWYQQKPKSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGSTSYSLTISRVEAEDAATYVYQQWISNPTTFGAGTKLEKKEPKPSTPGSSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYTFGADFSHVTFPGTTAVTLSCDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYL DLMESHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRQGFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNC HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 701</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 414</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTLSCDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRQGFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNCHHHAASA AAEFPKSTPPGSSGAPDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDVNTAVAWYQQKPKGKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISSLQPEDFATYVYQQQHYTTPPTFGQGTKVEIKGGGGSEVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTILVTVSSNLVPMVATV</p>
<p>SEQ ID NO 702</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 415</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFSHVTFPGTTAVTLSCDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRQGFRTLLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNCHHHAASA AAEFPKSTPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTILVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITICRASQDVNTAVAWYQQKPKAPKLLIYASFLYSGVPSRFSRSGTDFLTISSLQPEDFATYVYQQQYL YHPATF CQGTKVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 703</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 416</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALLNCHHHASAVAAEFKPK STPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVVROA PGKCLEWVAWISPYGGSTIYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVVYCARRHWPGGFDYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSGGTIDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATF GQGTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 704</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 417</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALLNCHHHASAVAAEFKPK STPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVVROA PGKCLEWVAWISPYGGSTIYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVVYCARRHWPGGFDYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSGGTIDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATF GQGTKVEIKGILGFVFTL</p>
<p>SEQ ID NO 705</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 418</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALLNCHHHASAVAAEFKPK STPPGSSGGAPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVVROA PGKCLEWVAWISPYGGSTIYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED TAVVYCARRHWPGGFDYWGQGTLLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCRASQDVSTAVAWYQQKPKAPK LLIYSASFLYSGVPSRFSGSGGTIDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATF GQGTKVEIKGILGFVFTL</p>

<p>SEQ ID NO 706</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 419</p>	<p>QVQLQQPAAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWIG AIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTSEDSAVYYCARSN YYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGTSKSGKPGSGEGQIVLSQSPITLSAS PGEKVTMTCRASSSVYMDWYQOKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGS GSGTYSLTISRVEAEDAATYYCQWISNPTFGAGTKLEKFEKPPSTPPG SSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL MIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNVY RFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDL MSHSGTSLTQSVARAMLRFVITAEALRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYVM TAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALINCHH HASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 707</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 420</p>	<p>MQVQLQQPAAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTSEDSAVYYCAR NYYGSSYVWFFDVGAGTTVTVSSGTSKSGKPGSGEGQIVLSQSPITLS ASPGEKVTMTCRASSSVYMDWYQOKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWISNPTFGAGTKLEKFEKPPSTP PGSSGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGT LLMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSY LDMSHSGTSLTQSVARAMLRFVITAEALRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALIN CHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 708</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 421</p>	<p>MDIQMTQSPFSLASVGDRTVITCRASQDVNTAVAWYQOKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSGRSGTDFLTISLQPEDFATYYCQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTGTSKSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFNIK DTYIHVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGGQTLVTVSSEFPKPPSTPP GSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNV YRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVITAEALRFRQIQRGRFTLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALIN CHHASAVAAKDEL</p>

SEQ ID NO 709	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 422	<p>MDIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY SASFLYSGVPSRFSRSGTDFTLTISLSLQPEDFATYYCQOHYTPITFGQGT KVEIKRTGTSKSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK DTYIHVVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAY LQMNSLR AEDTAVYYCSRWGQDGFYAMDVWVWQGGTILVTVSSEFPKPTPP GSSGGAPGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVF YRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGERFTLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNC HHHASAVA AAKDEL</p>
SEQ ID NO 710	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 423	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPSRFSGSGKDYTL SITSLSQTEDVATYYCQQYWSPTIFGGGTK LEIKGTSKSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVVRQSPGKGLEWLVIVWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKSQVFFKMN SLQADDTAIFYCAKTLITTYAMDYWGQGTITVTVSSEFPKPTPPGSSGGA PGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSG SGDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVFYRFADF SHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGERFTLDDLSGRSYVMTAEDV DLTNLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHASA VAAKDEL</p>
SEQ ID NO 711	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 424	<p>MDIELTQSPSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA TSLETGVPSRFSGSGKDYTL SITSLSQTEDVATYYCQQYWSPTIFGGGTK LEIKGTSKSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQRLSITCTVSGFSLISYGV HWVVRQSPGKGLEWLVIVWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNKSKSQVFFKMN SLQADDTAIFYCAKTLITTYAMDYWGQGTITVTVSSEFPKPTPPGSSGGA PGILGFVFLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSG SGDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVFYRFADF SHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTILQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSG TSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGERFTLDDLSGRSYVMTAEDV DLTNLNWGRLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHASA VAAKDEL</p>

SEQ ID NO 712	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 425	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNSNGNTLYWFLQRPQSPQL LIYRMSNLAGVPDRFSGSGGTAFTRISRVEAEDVGVVYCMQHLEYPFT FGAGTKLELKGSTSGSKPGGEGEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKS SSTAYMELSSLTSEDSAVVYCYARGTYVYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFP KPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTTIS SGGTSLLMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVN RTNNVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHS LFTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDDL SGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSV ALILNCHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 713	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 426	<p>MDIVMTQAAPSIPTPGESVSISCRSSKSLNSNGNTLYWFLQRPQSPQL LIYRMSNLAGVPDRFSGSGGTAFTRISRVEAEDVGVVYCMQHLEYPFT FGAGTKLELKGSTSGSKPGGEGEVQLQQSGPELIKPGASVKMSCKASG YFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKS SSTAYMELSSLTSEDSAVVYCYARGTYVYGSRVFDYWGQGTTLTVSSAEFP KPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTTIS SGGTSLLMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVN RTNNVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHS LFTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDDL SGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSV ALILNCHHHASAVAAKDEL</p>
SEQ ID NO 714	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 427	<p>MDIQLTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFQRPQSPRL LIYTVSNRFGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVVYFCSQSSHVPPTFG AGTRLEIKGSTSGSKPGGEGSTKGVQLQQSGSELKPGASVKVSCKAS GYTFINYGVNWIKQAPQGLQWGMWINPNTGEPTFDDDFKGRFAFSLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWFAYWGQGTTLTVSSEFPKPS TPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTTISSGG TSLLMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRIN NVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTS YLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDDLSGRS YVMTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALIL NCHHHASAVAAKDEL</p>

SEQ ID NO 715	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 428	<p>MDIQLTQSPLSLPPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLHWFQQRPGQSPRL LIYTVSNRFGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSSQSSHVPPTFG AGRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKGVQLQQSGSELKPKGASVKVSCKAS GYFTNYGVNWIQAPGQGLQWGMWINPNTGEPFDKGRFAFSLDTS VSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWFAYWQQTILVTYSSEFPKPS TPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDEFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSCG TSLLMIDSGSDNLFVAVDVRGIDPEEGRNRLRIVERNNLYVTGFVNRIN NVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYITLQRVAGISRTGMQINRHSLTTS YLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGRFTLLDLSGRS YVMTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALIL NCHHHA SAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 716	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 429	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLCAASGITFSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTDYWGQGTQVTVSSAHSEDPSSKAPKAPGILGFVFTLKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAVDVRGIDPEEG RFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSS YITLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIQRGRFTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNCHHHA SAVA AKDEL</p>
SEQ ID NO 717	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 430	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRSLCAASGITFSINIMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTDYWGQGTQVTVSSSEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFST AKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAVDVRGIDPEEG RFNNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNNVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSS YITLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTV TAEALRFRQIQRGRFTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYH GQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNCHHHA SAVA AKDEL</p>

SEQ ID NO 718	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 431	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGIFTFSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSAHHSEDPSSKAPKAPGILGFVFTL GILGFVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNTNFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSDSSYITLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINCHHHASAVA AAKDEL</p>
SEQ ID NO 719	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 432	<p>MEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGIFTFSINTMGWYRQAPGKQRELVA LISSIGDTYY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKRFRF AAQGTIDYWGQGTQVTVSSEFPKPSPPGSSGGAPGILGFVFTL GILGFVFTL KEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF AVD VRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNTNFYRFADFSHVTFPGTT AVTLSDSSYITLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV A RAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR LSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINCHHHASAVA AAKDEL</p>
SEQ ID NO 720	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 433	<p>MAPTSSSTKKTLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFMPPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAAQSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETT FMCEYADETATIVFEFLNRWITFCQSHSTLTFEPPKSTPPGSSGGAPGILGFV TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF A VDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNTNFYRFADFSHVTFPG TTAVTLSDSSYITLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINCHHHASAVA AAKDEL</p>
SEQ ID NO 721	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 434	<p>MAPTSSSTKKTLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFMPPKK ATELKHLCLEELKPLEEVNLAAQSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETT FMCEYADETATIVFEFLNRWITFCQSHSTLTFEPPKSTPPGSSGGAPGILGFV TLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLF A VDVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNTNFYRFADFSHVTFPG TTAVTLSDSSYITLQRVAGISRTGMQNRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGR RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALINSHHHASAVA AAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 722</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 435</p>	<p>MQVQLVQSGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARAQLRPNYWYEDVWGAGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSDIVLSQSPAILSA SPGEKVTMTCRASSSVYMHWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGTYSLTISRVEAEDAA TYYCQQWISNPTTFGAGTKLELKEFKPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGSDNLF AVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRITLDDL SGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNC HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 723</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 436</p>	<p>MQVQLQPPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFD VWGAGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGTYSLTISRVEAEDAA TYYCQQWISNPTTFGAGTKLELKEFKPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGSDNLF AVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRITLDDL SGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNC HHHASAVAA</p>
<p>SEQ ID NO 724</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 437</p>	<p>MQVQLQPPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYYCARS NYYGSSYVWFFD VWGAGTTVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGTYSLTISRVEAEDAA TYYCQQWISNPTTFGAGTKLELKEFKPSTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSL LMIDSGSDNLF AVDVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRITNNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYLD LMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRGFRITLDDL SGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILG SVALILNC HHHASAVAA</p>

SEQ ID NO 725	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 438	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTTSYNVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFEDVWGAGTIVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPITLSASPGKVTMTCRASSVSYMDWYQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPARFSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQQWISNPTFGAGTKLEKEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALINCHHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 726	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 439	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTLSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTIVTVSAGSTSGSKPGSGEGSTKQIVLSQSPAILSASPGKVTMTCRASSVSYIHWQKPGSSPKPWYATSNLASGVVPRFSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPTFGGGTKLEKEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALINCHHHASAVAA</p>
SEQ ID NO 727	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 440	<p>MEVQLVESGGGLVQPGRSLRSLSCASGFTFNDYAMHWVVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNLSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYGMDVWGQGTIVTVSSGSTSGKPGSGEGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGTDFTLTISLSEPEDEFAVYYCQQRSNWPIIFGQGRLEKEFPKPTPPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLMIDSGSGDNLFAVDVRGIDPEEGRFNNLRLLIVERNNLYVTGFVNRITNNVYRFADFHVTFPGTTAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWGRLLSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALINCHHHASAVAA</p>

<p>SEQ ID NO 731</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 444</p>	<p>ASVSDVPRDLEVVAAFTPTSLIISWCRQRCADSYRITYGETGGNSPVQEFTV PGSWKTA TISGLKPGVDYITIVYVTHYYGWDRYSHPI SINYRTGSEFFKPS TPGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGG TSLLMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLSVTGFVNRITN NVFYRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTS YLDLMSHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTADALRFRQIQRCFRTLLDDLSGRS YVMTAEDVDLTLNWGRLESSVLPDYHGDQSVR VGRISFGSINAILGSAVAIL NCHHHA SAVA A</p>
<p>SEQ ID NO 732</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 445</p>	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYFTFSYVHVHWKQTPGQGLEWI GAIYPNGDITSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSESAVYYCARS NYYGSSYVWFEDVWGAGTTVTVSSGSTSGKPGSGEQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYCCQWISNPPTFGAGTKLELNEFFKPSPT PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTSSGGTS LLMIDSGSDNLFADVVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRITNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYL DLMHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAEALRFRQIQRCFRTLLDDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRLESSVLPDYHGDQSVR VGRISFGSINAILGSAVAILNC HHHASAVAACITGDALVALPEGESVRIADIVPGARPNSDNAIDLKVLDRHG NPVLADRLFHSGEHPVYTVRTVEGLRVTGTANHPLLCCLVDVAGVPTLLWK LIDEIKPGDYAVIQRSAFSVDCAFGARGKPEFAPTYTVGVVGLVRFLEAHH RDPDAQAIADELTDGRFYAKVASVTDAGVQPVYSLRVDTADHAFITNGF VSHATGLTGLNSGLTINPGVSAWQVNTAYTAGQLVTYNGKTYKCLQPHY SLAGWEPSNVPALWQLQ</p>

SEQ ID NO 733	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 446	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHVVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLEKEFPKPSIP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGSDNLFVAVDVRGIDPEEGFENLRNLRIVERNNLYVTGFVNRITNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYL DLMHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNC HHHASAVAACITGDALVALPEGESVRIADIVPGARPNSDNAIDLKVLDRHG NPVLADRLFHSGEHPVYTVRTVEGLRVTGTANHPLLCLVDVAGVPTLLWK LIDEIKPGDYAVIQRSAFSVDCAFGARGKPEFAPTTYTVGVPGLVRFLEAHH RDPDAQAJADELTDGRFYAKVASVTDAGVQPVYSLRVDTAHAFITNGF VSHATGLTGLNSGLTINPGVSAWQVNTAYTAGQLVITYNGKTYKCLQPHI SLAGWEPSPALWQLQ</p>
SEQ ID NO 734	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 447	<p>MQVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFTSYNVHVVKQTPGQGLEWI GAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDAVYYCARS NYYGSSYVWFFDVWGAGTTVTVSSGSTSGSKPGSGEGSQIVLSQSPTILS ASPGEKVTMTCRASSSVSYMDWYQQKPKGSSPKPWYATSNLASGVPARFS GSGGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWISNPPFTFGAGTKLEKEFPKPSIP PGSSGGAPGILGFVFTLKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTS LLMIDSGSDNLFVAVDVRGIDPEEGFENLRNLRIVERNNLYVTGFVNRITNV FYRFADFSHVTFPGTTAVTLSDSSYTLQRVAGISR TGMQINRHSLTTSYL DLMHSGTSLTQSVARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYV MTAEDVDLTLNWGRSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSAVALILNC HHHASAVAAKDEL</p>

<p>SEQ ID NO 735</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 448</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVFTLMQVQQLQPPGAELVKPGASVKMSCKTSGYTFT SYNVHWVKQTPGQGLEWIGAIYPNGDTSFNQKFKGKATLTADKSSSTVY MQLSSLTSEDSAVYYCARSNYYGSSYVWFFDVWGAGITVTVSSGSGTSGSG KPGSGEISOIVLSOSPILSAPGEEKVTMTCRASSSVSYMDWYQOKPGSSP KPWYATSNLASGVPARFSGSGSGTYSYLSLTSRVEAEDAATYYCQQWISNPP TFGAGTKLELK</p>
<p>SEQ ID NO 736</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 449</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVFTLDIELTQSPSSFSVSLGDRVTTTCKASEDIYNRLA WYQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSPRFSGSGGKDYTLSTSLQTEDVATY YCCQYWSIPTFGGGTKLEIKGTSGSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQ RLSITCTVSGFSLISYGVHVVRRQSPGKGLEWLVGIWRGGSTIDYNAAFMSRL SITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYFCAKTLITTTGYAMDYWGQGTITVTV SS</p>
<p>SEQ ID NO 737</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 450</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSGDNLFAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVA AEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVFTLDIELTQSPSSFSVSLGDRVTTTCKASEDIYNRLA WYQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSPRFSGSGGKDYTLSTSLQTEDVATY YCCQYWSIPTFGGGTKLEIKGTSGSGKPGSGEGSKVQLQESGPSLVQPSQ RLSITCTVSGFSLISYGVHVVRRQSPGKGLEWLVGIWRGGSTIDYNAAFMSRL SITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYFCAKTLITTTGYAMDYWGQGTITVTV SS</p>

<p>SEQ ID NO 738</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 451</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLF DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFVSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNHWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNCHHHASAVA AEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVTLDIQMTQSPSSLSASVGDVTVITCRASQDVNTA VAWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHYTTPPTFGQTKVEIKRTGTSQSGKPGSGEGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFENIKDTYIHWRVQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYA DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDV WGQGILVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 739</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 452</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLF DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFVSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNHWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNCHHHASAVA AEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVTLDIQMTQSPSSLSASVGDVTVITCRASQDVNTA VAWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHYTTPPTFGQTKVEIKRTGTSQSGKPGSGEGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFENIKDTYIHWRVQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYA DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDV WGQGILVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 740</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 453</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLF DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNNTNNVYRFADFVSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLLTSLYDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAELRFRQIQRGFRTLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNHWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINALGSVALILNCHHHASAVA AEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVTLDIQMTQSPSSLSASVGDVTVITCRASQDVNTA VAWYQQKPKGAPKLLIYASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQHYTTPPTFGQTKVEIKRTGTSQSGKPGSGEGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFENIKDTYIHWRVQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYA DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNLSRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDV WGQGILVTVSS</p>

SEQ ID NO 741	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 454	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAASA VAAEFPKP STPPGSSGGAPGILGFVFLDIVMTQAAPSIPVTPGESVSISSCRSSKSLNSNG NTYLYWFLQRPGSQPLLIIYRMSNLAGVPPDRFSGSGGTAFILRISRVEAE DVGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLELKGSTSGSKPGSGEGSEVQLQQSGP ELIKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTK YNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVVYCARGYYYGSRVFD YWGQGTILVTVSS</p>
SEQ ID NO 742	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 455	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAASA VAAEFPKP STPPGSSGGAPGILGFVFLDIQLTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNG NTYLHWFQQRPQSPRLLIYTVSNRFSVPPDRFSGSGTDFILKISRVEAE DVGVYFCSQSSHVPTFGAGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKQVQLQQS GSELKPKGASVKVSCKASGYTFTNYGVNWKQAPGQGLQWMGWINPNTG EPTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWF AYWGQGTILVTVSS</p>
SEQ ID NO 743	Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 456	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGSDNLFAY DVRGIDPEEGRFNRLRIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFSHVTFPGT TAVTLSGDSSYTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVAEALRFRQIQRGFRTLLDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGGQDSVRVGRISFGSINAILGVALILNCHHHAASA VAAEFPKP STPPGSSGGAPGILGFVFLDIQLTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNG NTYLHWFQQRPQSPRLLIYTVSNRFSVPPDRFSGSGTDFILKISRVEAE DVGVYFCSQSSHVPTFGAGTRLEIKGSTSGSKPGSGEGSTKQVQLQQS GSELKPKGASVKVSCKASGYTFTNYGVNWKQAPGQGLQWMGWINPNTG EPTFDDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCRSRSGKNEAWF AYWGQGTILVTVSS</p>

<p>SEQ ID NO 744</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 457</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAEALRFQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAHHSE DPSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGTFISINT MGWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYVLQMN SLKPEDTAVYYCKRFRATAOQIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 745</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 458</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAEALRFQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGTFISINT MGWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYVLQMN SLKPEDTAVYYCKRFRATAOQIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 746</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 459</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAEALRFQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAHHSE DPSSKAPKAPGILGFVFTLEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGTFISINT MGWYRQAPGKQRELVALISSIGDITYADSVKGRFTISRDNAKNTVYVLQMN SLKPEDTAVYYCKRFRATAOQIDYWGQGTQVTVSS</p>
<p>SEQ ID NO 747</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 460</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFNNRLIVERNNLYVTGFVNRNTNNVYRFADFHVTFPGT TAVTLSGDSSYTTLQRVAGISRTGMQINRHSLTTSYLDLMSHSGTSLTQSV ARAMLRFVTVTAEALRFQIQRGFRITLDDLSGRSYVMTAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAEFKPK STPPGSSGGAPGILGFVFTLDIVLTQSPASLAVSLQRATISCRATESVEYYG TSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDVSLTIHPVEED DIAMVFCQQSRRVPTYFGGGTKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVK MSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPFDNDGTYKYNEMFKGK ATLSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLVTVSA</p>

<p>SEQ ID NO 748</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 461</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGfVNRtNNVfYRFADfSHVtFPfGT TAVtLSGDSSyTTLQRVAGISRTGMQINRHSLtTSyLDLMSHSGTSLtQSV ARAmLRfVtVtAEALRFQRQRGFRtTLDDLSGRSYVMtAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAEFPKP STPPGSSGAPGILGFVfTLDIVLTQSPASLA VSLGQRATISCRATESVEYYG TSLVQWYQQKPGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDFSLtIHPVEED DIAMyFCQQRRVPYtFGGGTKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVK MSCKASGYtFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPfNDGtKYNEMfK GK ATLTSdKSSStAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTlVtVSA</p>
<p>SEQ ID NO 749</p>	<p>Molécula de reconocimiento de células de ejemplo 461</p>	<p>MKEFTLDFSTAKTYVDSLNVIRSAIGTPLQTIISSGGTSLLMIDSGSDNLFVAV DVRGIDPEEGRFNRLIVERNNLYVTGfVNRtNNVfYRFADfSHVtFPfGT TAVtLSGDSSyTTLQRVAGISRTGMQINRHSLtTSyLDLMSHSGTSLtQSV ARAmLRfVtVtAEALRFQRQRGFRtTLDDLSGRSYVMtAEDVDLTLNWG RLSSVLPDYHGQDSVRVGRISFGSINAILGSVALILNCHHHASAVAAEFPKP STPPGSSGAPGILGFVfTLDIVLTQSPASLA VSLGQRATISCRATESVEYYG TSLVQWYQQKPGQPKLLIYAASSVDSGVPARFSGSGGTDFSLtIHPVEED DIAMyFCQQRRVPYtFGGGTKLEIKGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVK MSCKASGYtFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYVNPfNDGtKYNEMfK GK ATLTSdKSSStAYMELSSLTSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTlVtVSA VPMVA TV</p>

REIVINDICACIONES

1. Molécula de reconocimiento de células que comprende:
- 5 i) un polipéptido efector de la toxina Shiga que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30,ç
 ii) una región de unión capaz de unirse específicamente a una biomolécula diana extracelular, en la que la región de
 unión es heteróloga al polipéptido efector de toxina Shiga, y
 iii) una carga de epítipo de células T CD8+ heterólogo que no está incluida ni incluida en el polipéptido efector de
 10 toxina Shiga, en el que la carga de epítipo de células T CD8+ está situada en el extremo carboxilo del extremo
 carboxilo del polipéptido efector de toxina Shiga.
2. Molécula de reconocimiento de células de la reivindicación 1, en la que la carga del epítipo de células T CD8+ está
 fusionada al polipéptido efector de la toxina Shiga o a la región de unión.
- 15 3. Molécula de reconocimiento de células de la reivindicación 2, en la que la molécula de reconocimiento de células
 comprende un polipéptido de cadena única que comprende la región de unión, el polipéptido efector de la toxina Shiga
 y la carga del epítipo de células T CD8+; o en la que la región de unión comprende dos o más cadenas polipeptídicas
 y la carga del epítipo de células T CD8+ está fusionada a un polipéptido que comprende el polipéptido efector de la
 20 toxina Shiga y una de las dos o más cadenas polipeptídicas.
4. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que la región de unión
 comprende un polipéptido seleccionado entre: fragmento de anticuerpo de dominio único, fragmento variable de
 cadena única, fragmento variable de anticuerpo, fragmento de región 3 determinante complementaria, polipéptido FR3-
 25 CDR3-FR4 restringido, fragmento Fd, fragmento de unión a antígeno, polipéptido repetido Armadillo, décimo dominio
 de fibronectina tipo III derivado de fibronectina, dominio tipo III de tenascina, dominio con motivo repetición de
 anquirina, dominio A derivado del receptor de lipoproteínas de baja densidad, lipocalina, dominio Kunitz, dominio Z
 derivado de la proteína A, dominio derivado de cristalina gamma-B, dominio derivado de ubiquitina, polipéptido
 derivado de Sac7d, dominio SH2 derivado de Fyn, miniproteína, almacén de dominio similar a lectina de tipo C o un
 30 homólogo manipulado genéticamente de cualquiera de los anteriores que retiene la unión a la biomolécula diana
 extracelular;
 o en la que la región de unión comprende un dominio V_H autónomo; un fragmento de anticuerpo de dominio único
 (sdAb); un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un fragmento V_HH de camélido o un fragmento de
 dominio V_H; un dominio de anticuerpo de cadena pesada derivado de un pez cartilaginoso; un receptor de nuevo
 35 antígeno de inmunoglobulina (IgNAR); un fragmento V_{NAR}; un fragmento variable de cadena única (scFv); un
 fragmento scFv multimerizante, tal como un díacuerpo, triacuerpo o tetracuerpo; un fragmento de dominio variable (Fv)
 de anticuerpo; un Fv permutado (pFv), un minicuerpo Fv-C_H3 de cadena única, un fragmento de dominio C_H2 dímérico
 (C_H2D); un dominio de unión al antígeno Fc (Fcab); un dominio inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP); una
 fusión scFv-Fc; una construcción Fab de cadena única de un brazo; un fragmento variable de anticuerpo (Fv)
 40 estabilizado con disulfuro; un fragmento de unión a antígeno (Fab) estabilizado con disulfuro que consiste en dominios
 V_L, V_H, C_L y C_H1; un fragmento F(ab')₂ bivalente (dímero Fab); un minicuerpo bivalente; un fragmento scFv en tándem
 biespecífico; un fragmento V_HH en tándem biespecífico; un minicuerpo biespecífico o una construcción biespecífica
 heterodimérica Fab de cadena única de un brazo.
5. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que la región de unión
 45 comprende un dominio de inmunoglobulina.
6. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la región de unión
 es capaz de unirse a la biomolécula diana extracelular: CD20, CD22, CD40, CD74, CD79, CD25, CD30,
 50 HER2/neu/ErbB2, EGFR, EpCAM, EphB2, antígeno de membrana específico de la próstata, Cripto, CDCP1,
 endoglina/CD105, proteína de activación de fibroblastos, Lewis-Y, CD19, CD21, CS1/SLAMF7, CD33, CD52, CD133,
 gpA33, mucina, TAG-72, receptor transmembrana de tirosina-proteína quinasa, anhidrasa carbónica IX, proteína de
 unión a folato, gangliósido GD2, gangliósido GD3, gangliósido GM2, gangliósido Lewis-Y2, VEGFR, Alpha V beta3,
 Alpha5beta1, ErbB1/EGFR, Erb3, c-MET, IGF1R, EphA3, TRAIL-R1, TRAIL-R2, RANK, tenascina, CD64, mesotelina,
 BRCA1, MART-1/MelanA, gp100, tirosinasa, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, GAGE-1/2, BAGE, RAGE, NY-ESO-
 55 1, CDK-4, beta-catenina, MUM-1, caspasa-8, KIAA0205, HPVE6, SART-1, PRAME, antígeno carcinoembrionario,
 antígeno prostático específico, antígeno de células madre prostáticas, aspartil (asparaginil) beta-hidroxilasa humana,
 EphA2, HER3/ErbB-3, MUC1, antígeno asociado a tirosinasa, HPV-E7, antígeno del virus de Epstein-Barr, Bcr-Abl,
 antígeno alfafetoproteína, 17-A1, antígeno del tumor de vejiga, SAIL, CD38, CD15, CD23, CD45, CD53, CD88, CD129,
 60 CD183, CD191, CD193, CD244, CD294, CD305, C3AR, FceR1a, IL-1R, galectina-9, mrp-14, NKG2D, PD-L1, Siglec-
 8, Siglec-10, CD49d, CD13, CD44, CD54, CD63, CD69, CD123, TLR4, IgE, CD107a, CD203c, CD14, CD68, CD80,
 CD86, CD115, F4/80, ILT-3, galectina-3, CD11a-c, GITRL, molécula de MHC de clase I, molécula de MHC de clase II,
 CD284, CD107/Mac3, CD195, HLA-DR, CD16/32, CD282, CD11c, o un fragmento inmunogénico de cualquiera de los
 anteriores.
7. Molécula de reconocimiento de células de la reivindicación 6, en la que la región de unión se une a una parte
 65 extracelular de PD-L1.

- 5 8. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende dos, tres, cuatro o más cargas de epítomos de células T CD8+ heterólogos que no están incluidas ni incluidas en el polipéptido efector de la toxina Shiga.
9. Molécula de reconocimiento de células de la reivindicación 8, en la que las dos, tres, cuatro o más cargas de epítomos de células T CD8+ heterólogos están situadas en el extremo carboxilo del polipéptido efector de la toxina Shiga.
- 10 10. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende el péptido enlazador mostrado en las SEQ ID NO: 246, 247, 248, 249, 250 y/o 251.
11. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que la región de unión comprende una secuencia polipeptídica seleccionada entre cualquiera de las SEQ ID NO: 39-245.
- 15 12. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende o consiste en el polipéptido de una cualquiera de las SEQ ID NO: 389-404, 407, 420-421, 425-429, 459-473 y 656; o dos proteínas seleccionadas entre cualquiera de las SEQ ID NO: 389-404, 407 y 656, que comprenden además un residuo de metionina amino terminal.
- 20 13. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que la carga de epítomo de células T CD8+ heterólogo tiene una secuencia de aminoácidos según una cualquiera de las SEQ ID NO: 19-27.
- 25 14. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en forma de una sal o solvato farmacéuticamente aceptable.
15. Composición farmacéutica que comprende una molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1-14, y al menos un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.
- 30 16. Polinucleótido capaz de codificar una molécula de reconocimiento de células según cualquiera de las reivindicaciones 1-13.
17. Vector de expresión que comprende el polinucleótido de la reivindicación 16.
- 35 18. Célula huésped que comprende un polinucleótido de la reivindicación 16 y/o un vector de expresión de la reivindicación 17.
19. Molécula de reconocimiento de células, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, o una composición farmacéutica, según la reivindicación 15, para su uso en el tratamiento de una enfermedad en un paciente.
- 40 20. Molécula de reconocimiento de células o composición farmacéutica para su uso, según la reivindicación 19, en la que la enfermedad es un cáncer, un tumor, una anomalía del crecimiento, un trastorno inmunológico o una infección microbiana;
- 45 de manera opcional, en la que el cáncer se selecciona entre: cáncer de hueso, cáncer de mama, cáncer del sistema nervioso central/periférico, cáncer gastrointestinal, cáncer de células germinales, cáncer glandular, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hematológico, cáncer de riñón y del tracto urinario, cáncer de hígado, cáncer de pulmón/pleura, cáncer de próstata, sarcoma, cáncer de piel y cáncer de útero;
- 50 o en la que el trastorno inmunológico está asociado con una enfermedad seleccionada entre: amiloidosis, espondilitis anquilosante, asma, autismo, enfermedad de Crohn, diabetes, eritematoso, gastritis, rechazo de injerto, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, síndrome urémico hemolítico, enfermedad relacionada con el VIH, lupus eritematoso, trastornos linfoproliferativos, esclerosis múltiple, miastenia gravis, neuroinflamación, poliarteritis nudosa, poliartritis, psoriasis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, esclerodermia, choque séptico, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, colitis ulcerosa y vasculitis.

Figura 1. Dibujo esquemático de moléculas de reconocimiento de células de ejemplo, teniendo cada una un epitopo de células T CD8+ heterólogo posicionado carboxi terminal con respecto al efector de toxina Shiga desimmunizado resistente a la escisión por furina que tiene un epitopo de células T incluido

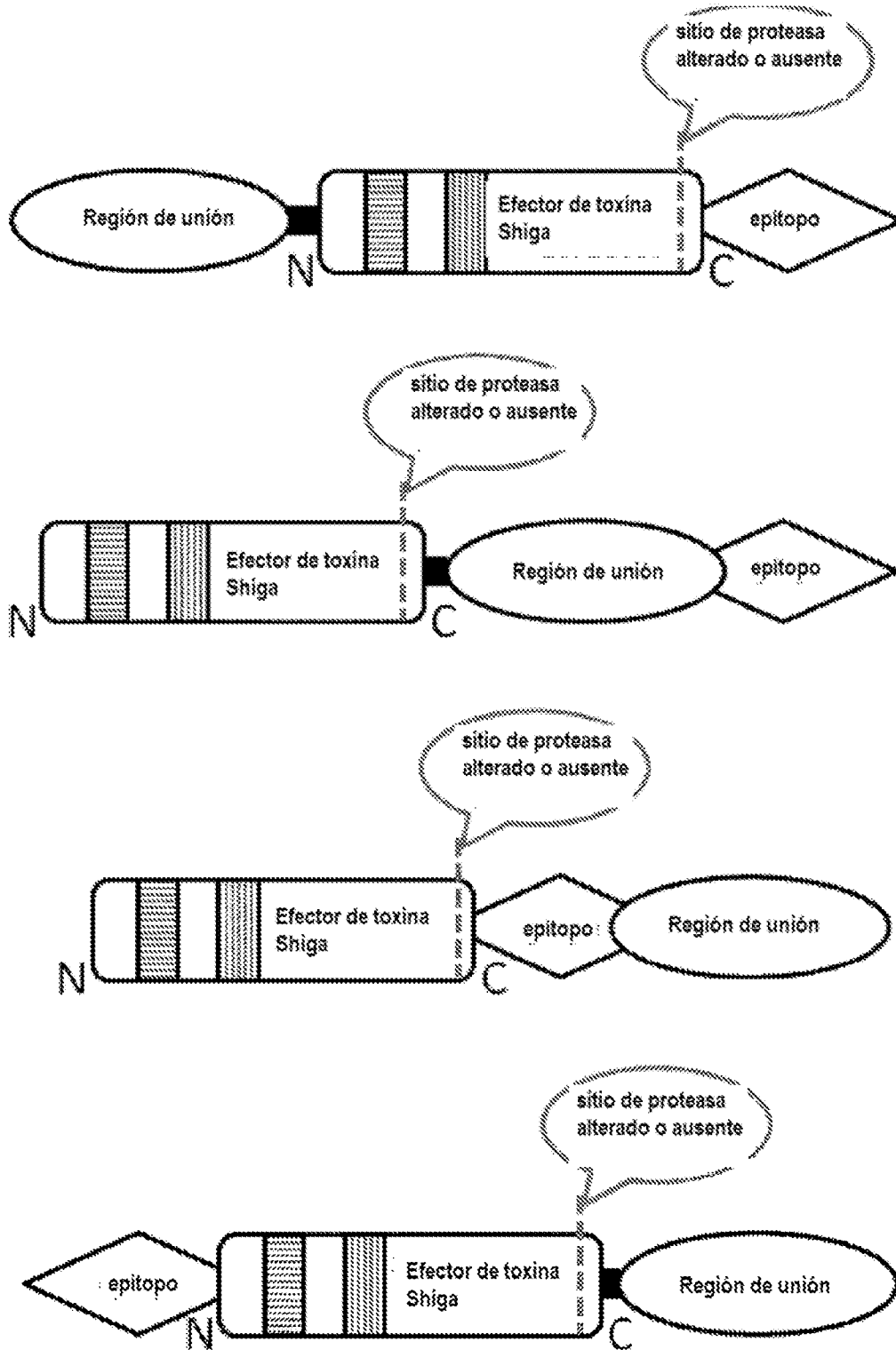


Figura 1-B. Dibujo esquemático de moléculas de reconocimiento celular de ejemplo adicional, comprendiendo cada una un efector de toxina Shiga desinmunizado que tiene un epítipo de células T incluido

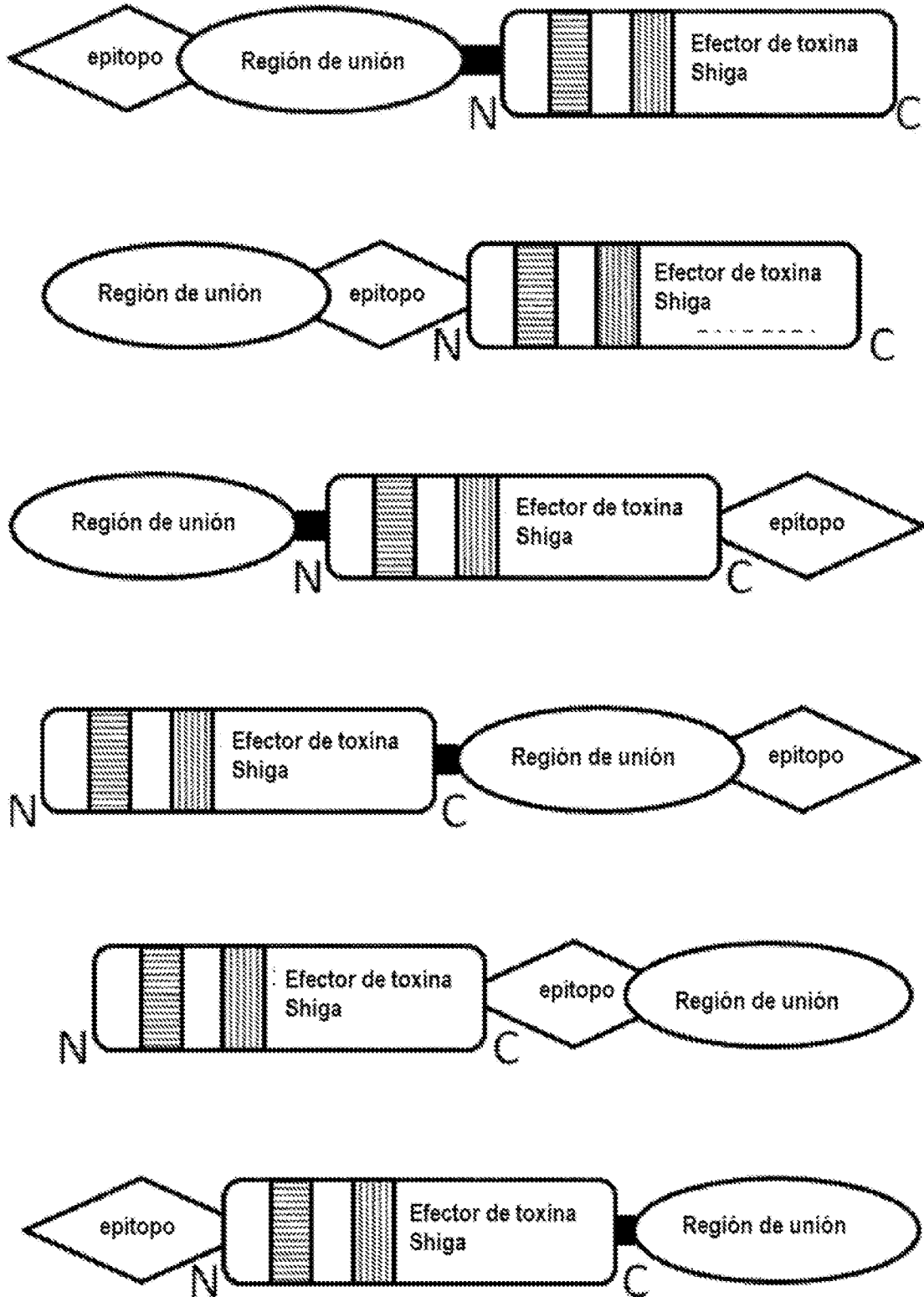
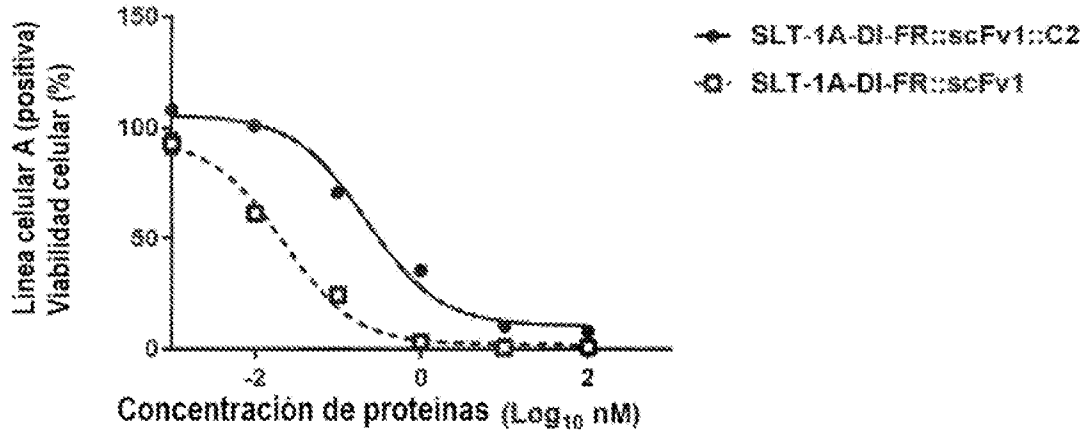
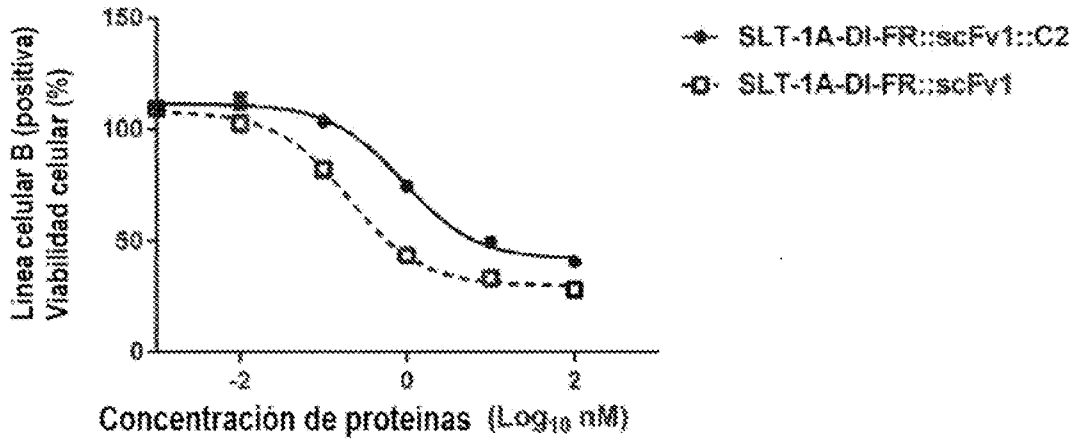


Figura 2. Citotoxicidad específica de SLTA-1A-DI-FR::scFv1::C2 y SLTA-1A-DI-FR::scFv1 a células positivas diana

A



B



C

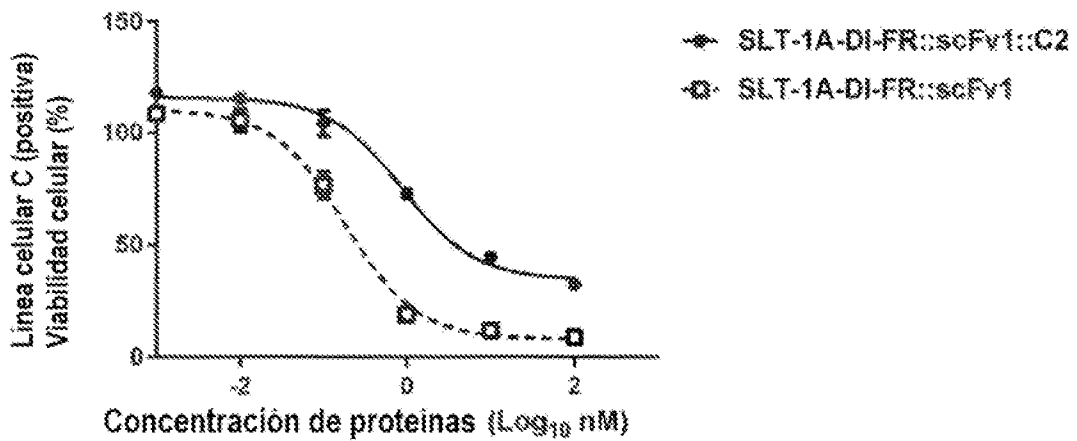


Figura 3. Datos de citometria de flujo que muestran la expresi3n en MHC de clase I en la superficie celular del epitopo C2 por c3lulas de c3ncer positivas diana tratadas con SLTA-1A-DI-FR::scFv1::C2

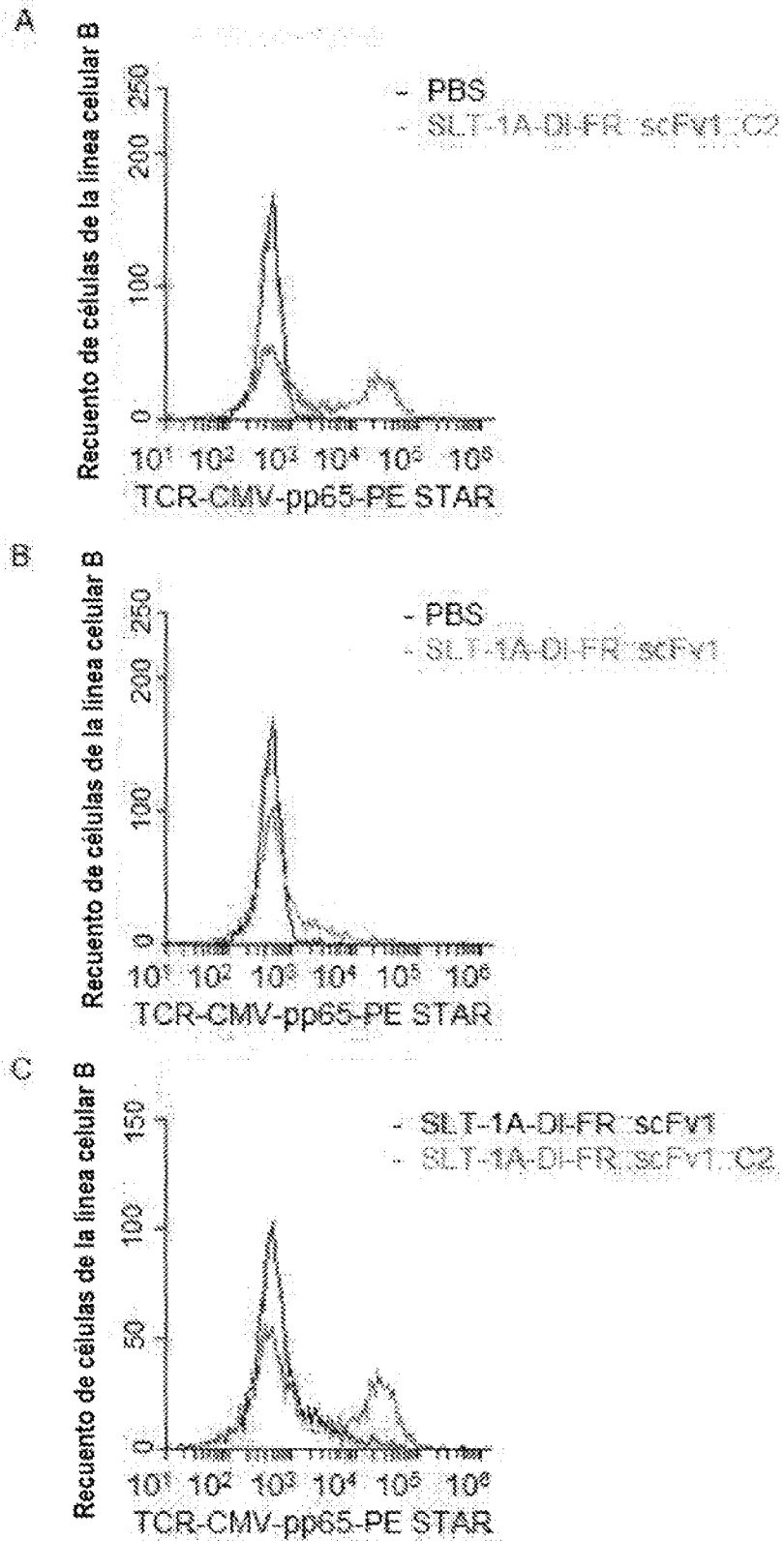


Figura 4. Perfil de cromatografía de exclusión por tamaño de una preparación de SLTA-1A-DI-FR:scFv1:C2 analizado en condiciones nativas

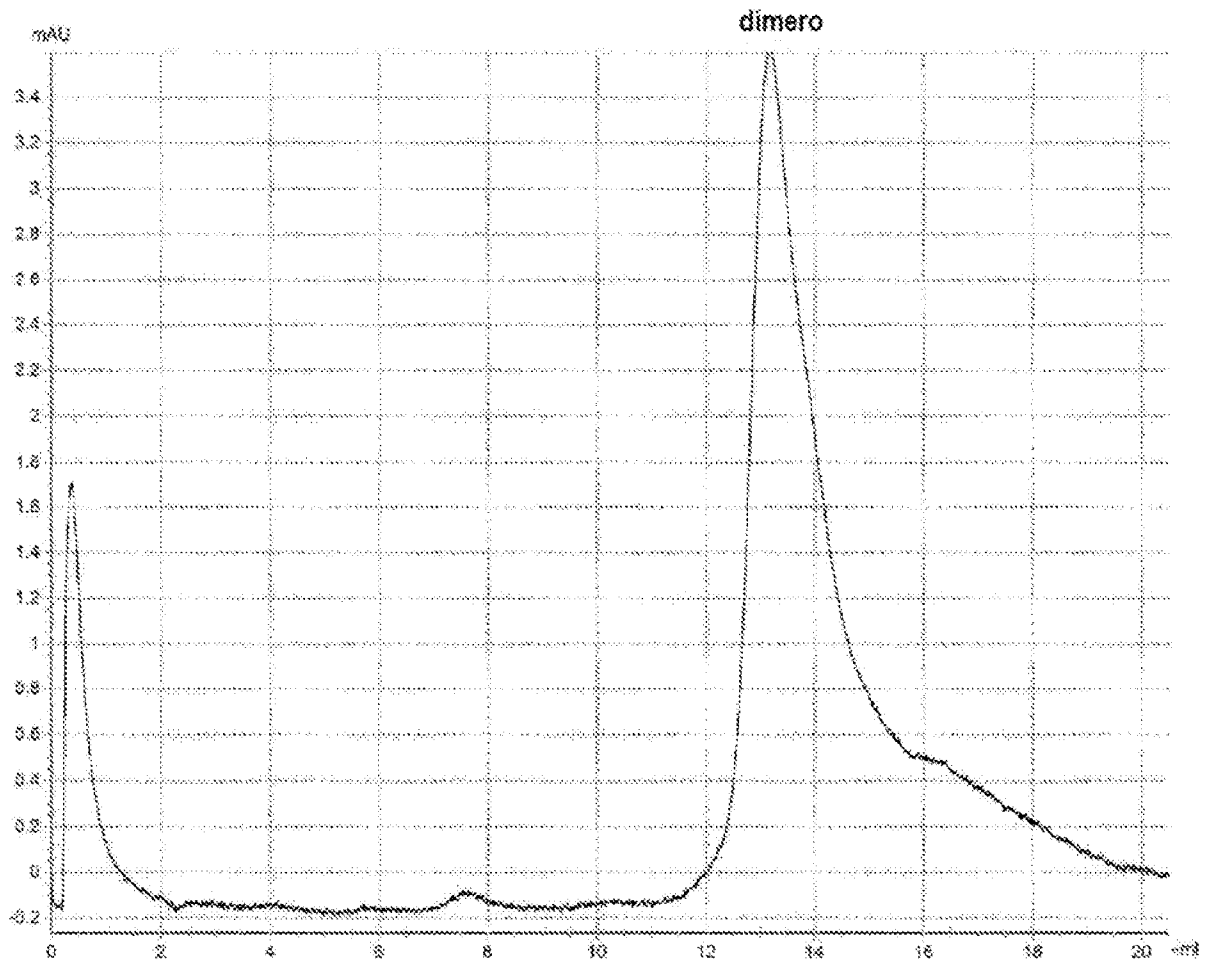


Figura 5. Representación de gel de SDS-PAGE teñido con Coomassie que muestra preparaciones de SLTA-1A-DI-FR::scFv1::C2 y SLTA-1A-DI-FR::scFv1 analizadas en condiciones reductoras y desnaturalizantes

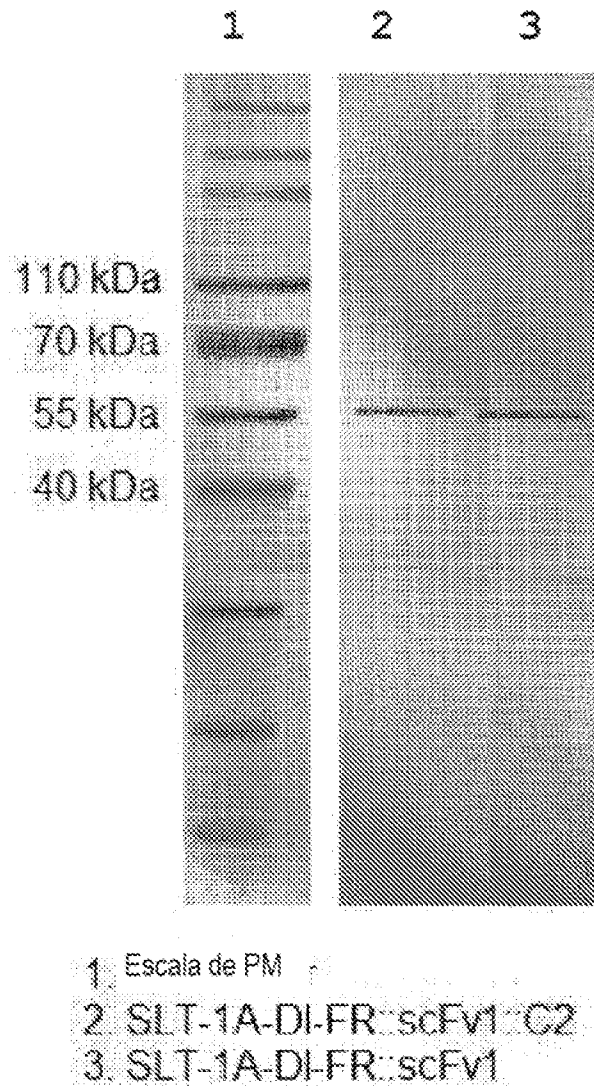


Figura 6. Citotoxicidad específica de SLT-1A::scFv1::C2 en comparación con SLT-1A-WT a células positivas diana

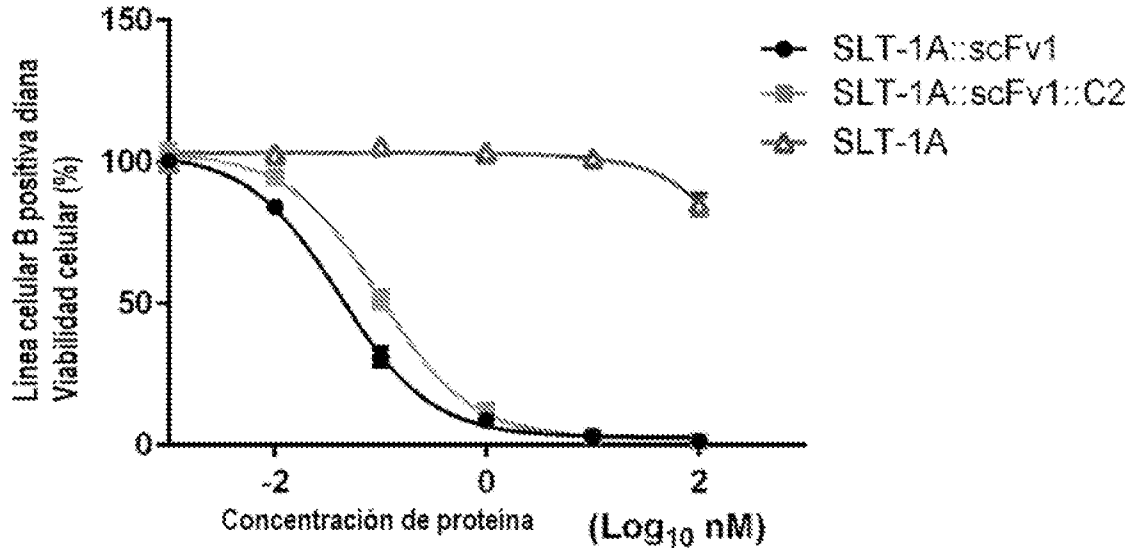


Figura 7. Falta de citotoxicidad de SLT-1A::scFv1::C2 para células negativas diana sobre un intervalo de concentración analizado

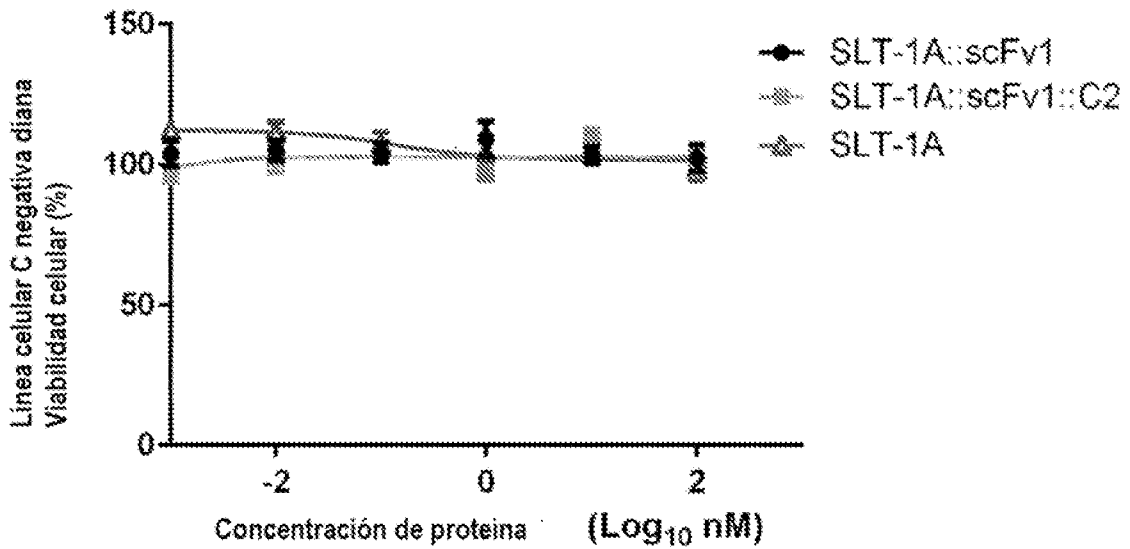


Figura 8. Datos de citometria de flujo que muestran la expresi3n en MHC de clase I en superficie celular de epitopo C2 por c3lulas de c3ncer positivas diana tratadas con SLT-1A::scFv2::C2

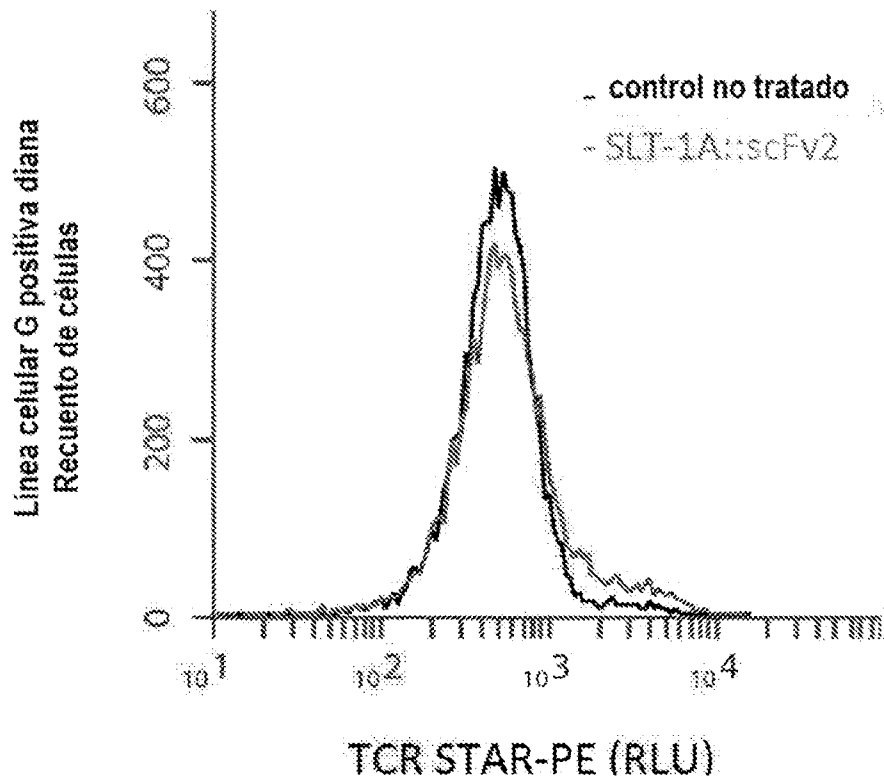
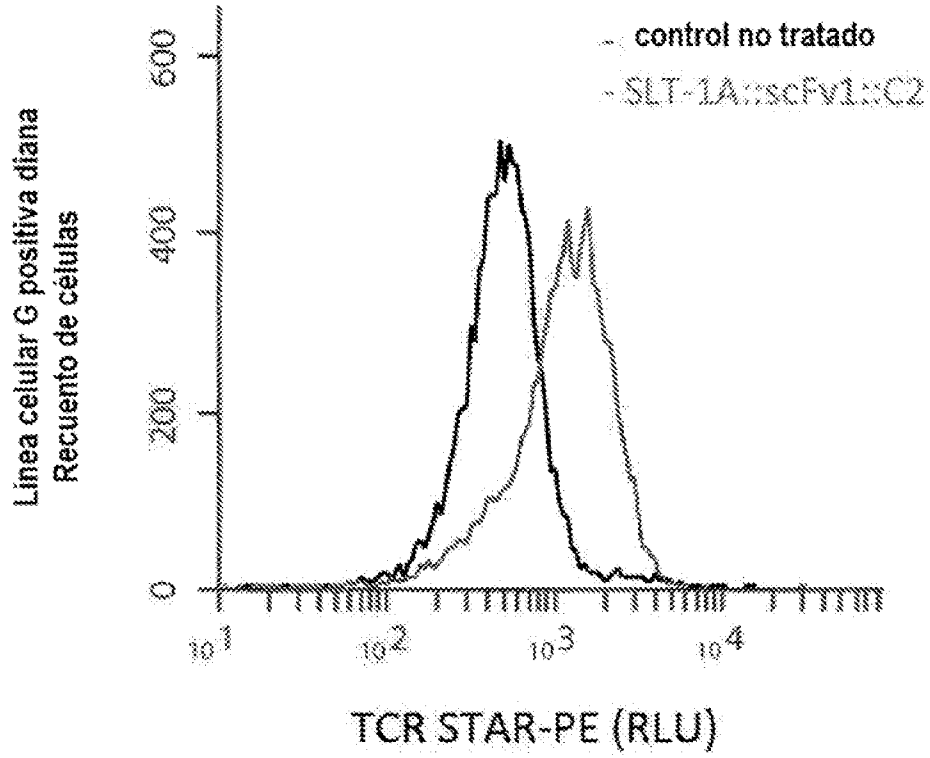


Figura 9. Datos de ensayo TCR-STAR(TM) que muestran la expresión en MHC de clase I en la superficie celular del epitopo C2 por células de cáncer positivas diana tratadas con "SLT-1A::scFv2::C2 inactiva"

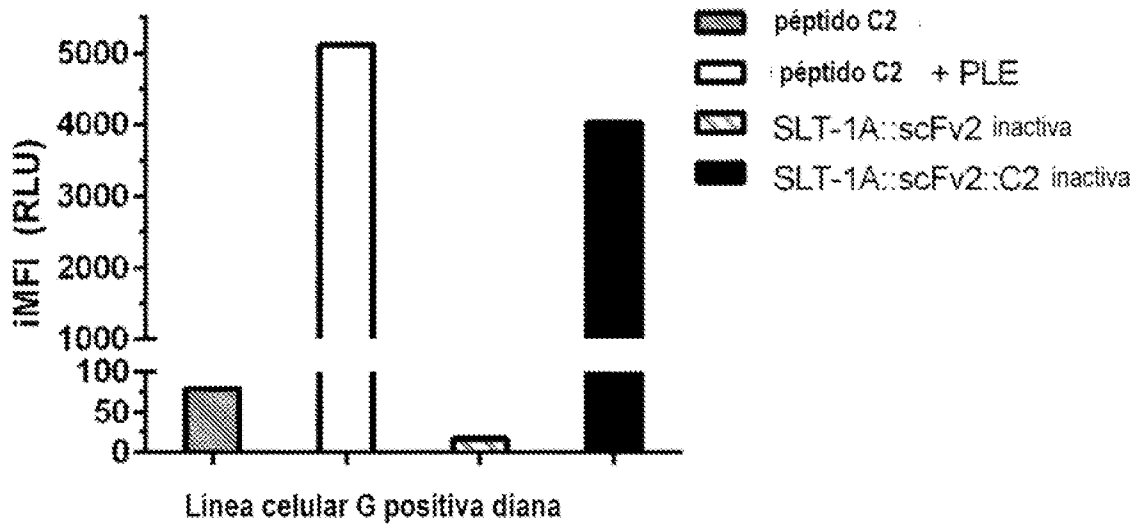


Figura 10. Datos de citometria de flujo que muestra la expresi3n en MHC de Clase I en superficie celular del ep3topo C2 por c3lulas positiva diana tratadas con SLT-1A::scFv1::C2 durante 4 o 16 horas

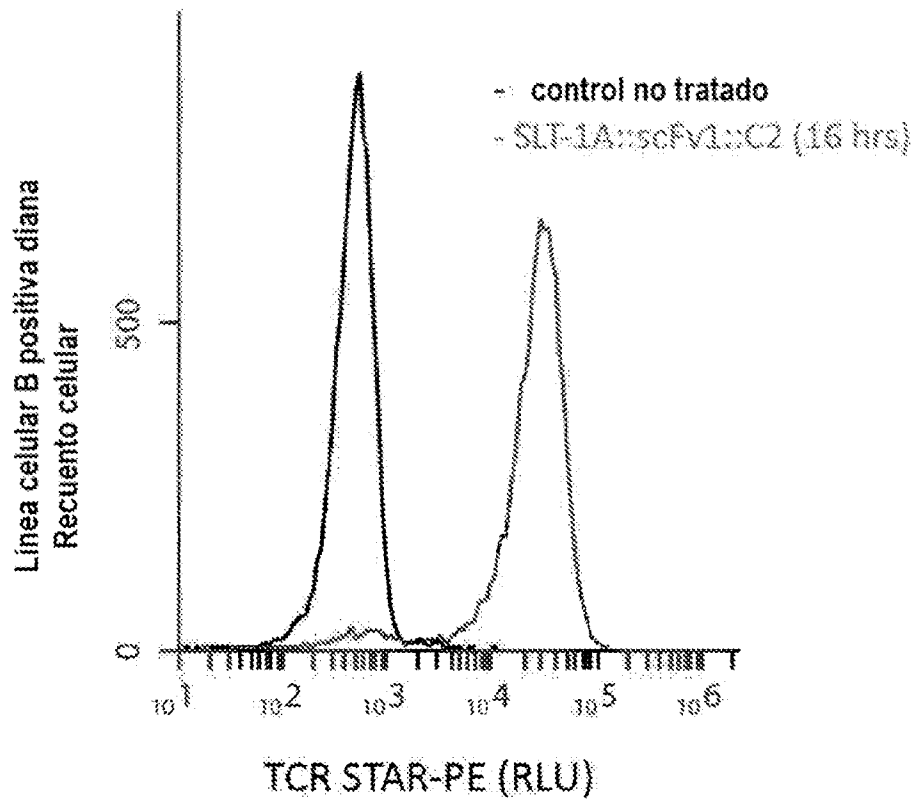
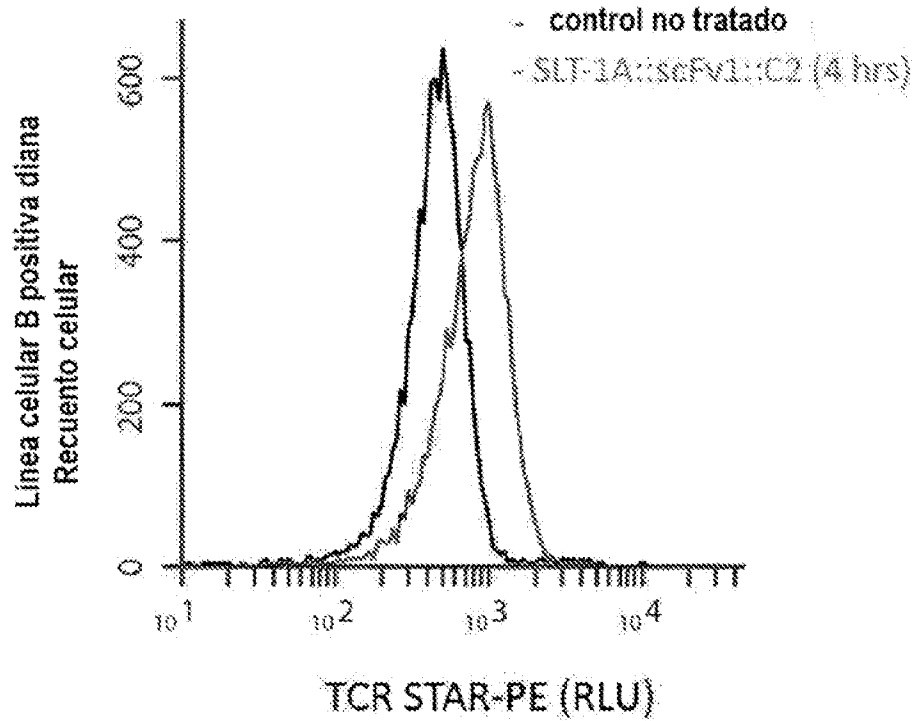


Figura 11. Datos de citometría de flujo que muestran la expresión en MHC de Clase I en superficie celular del epítopo C2 por células de cáncer diana positivas tratadas con SLT-1A::scFv5::C2

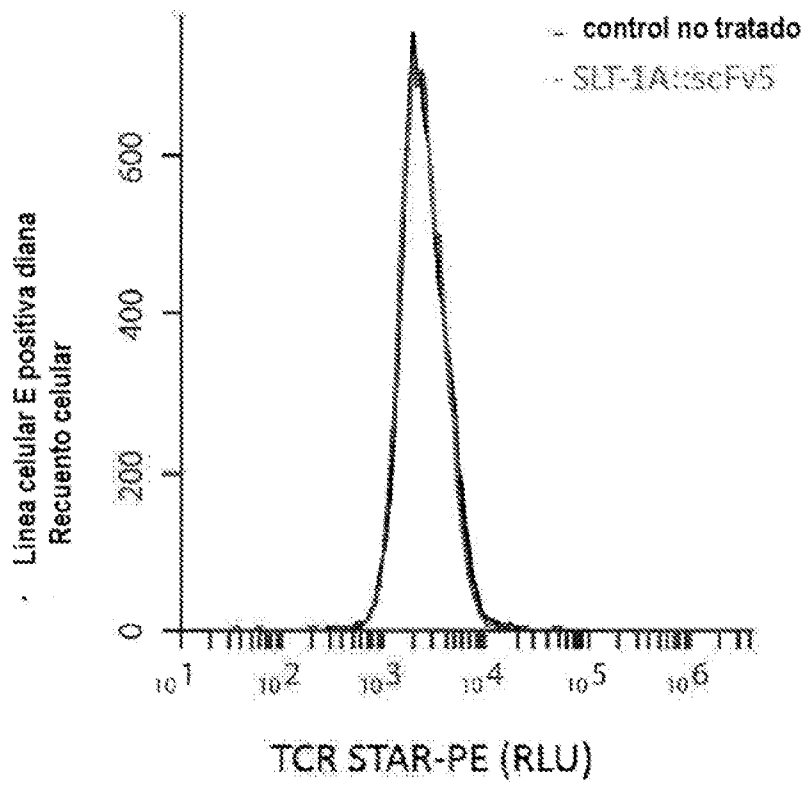
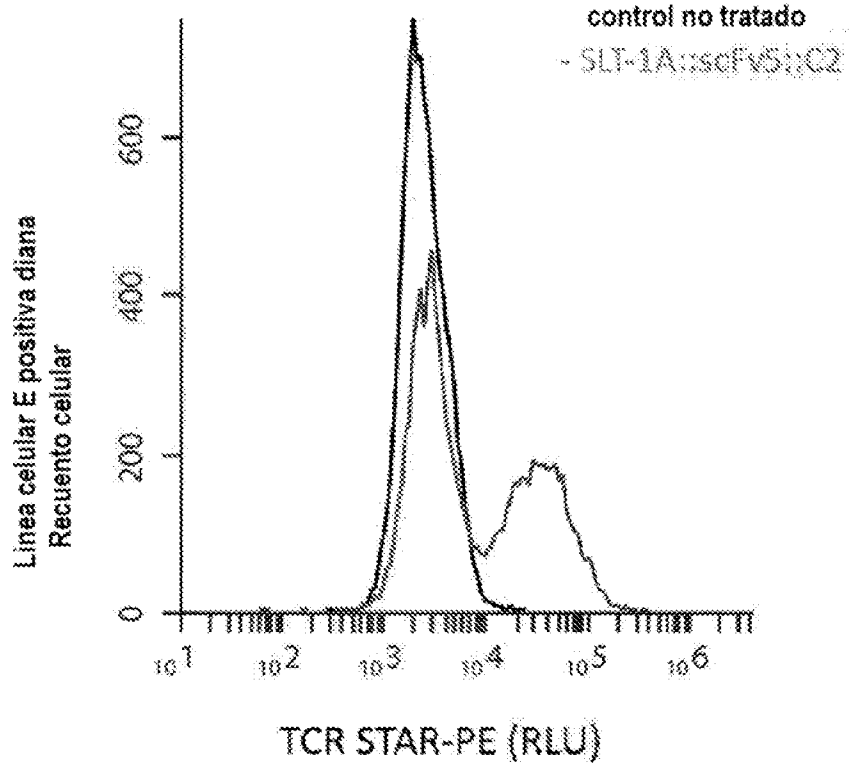


Figura 12. Datos de citometría de flujo que muestran la expresión en MHC de clase I en superficie celular del epítopo C2 por células de cáncer positiva diana tratadas con SLT-1A::scFv7::C2

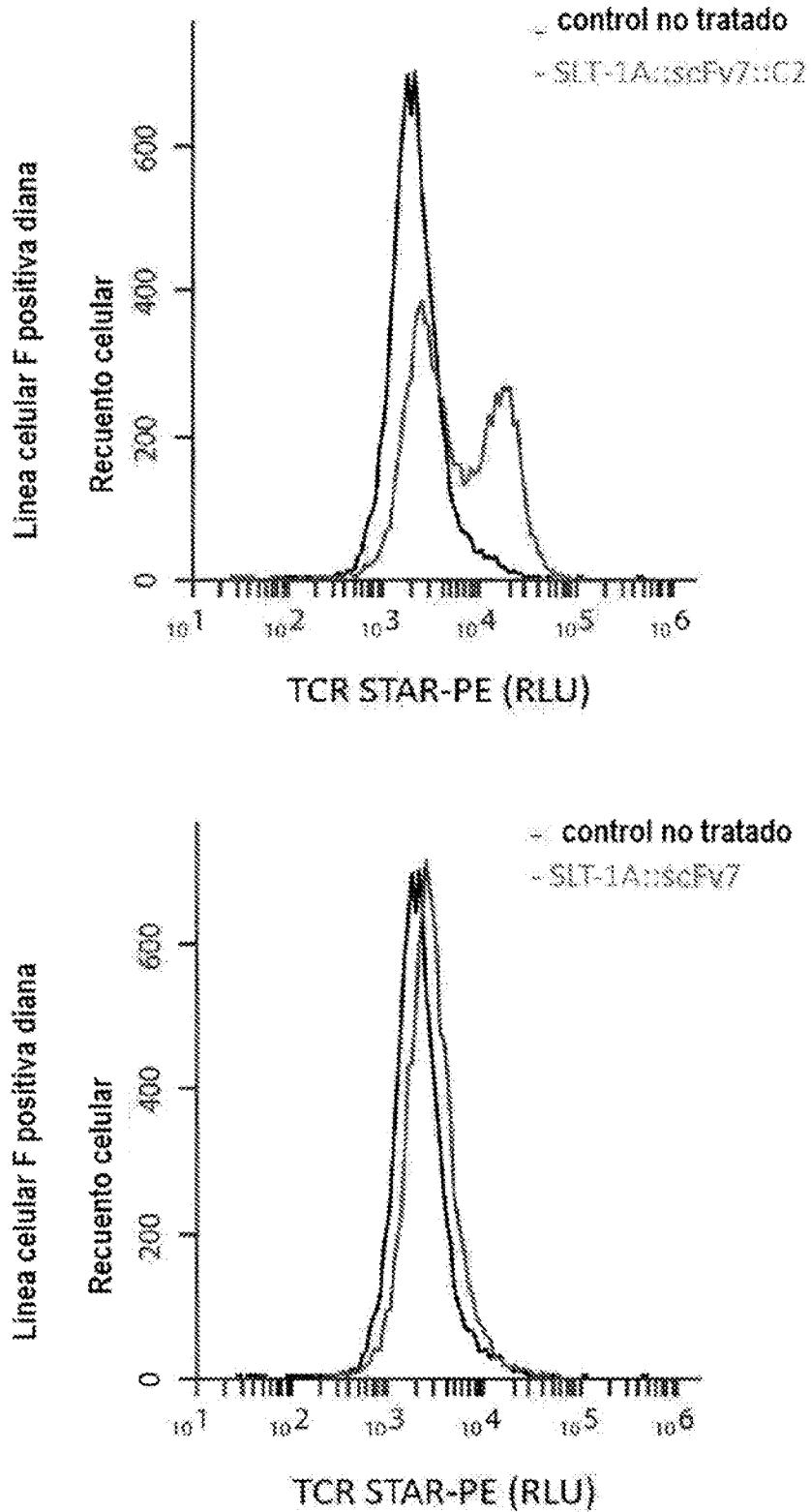


Figura 13. Secreción de interferón gamma por PBMC que reconoce la presentación de epitopo C2 por células de cáncer positiva diana tratadas con "SLTA-1A::scFv2::C2 inactiva"

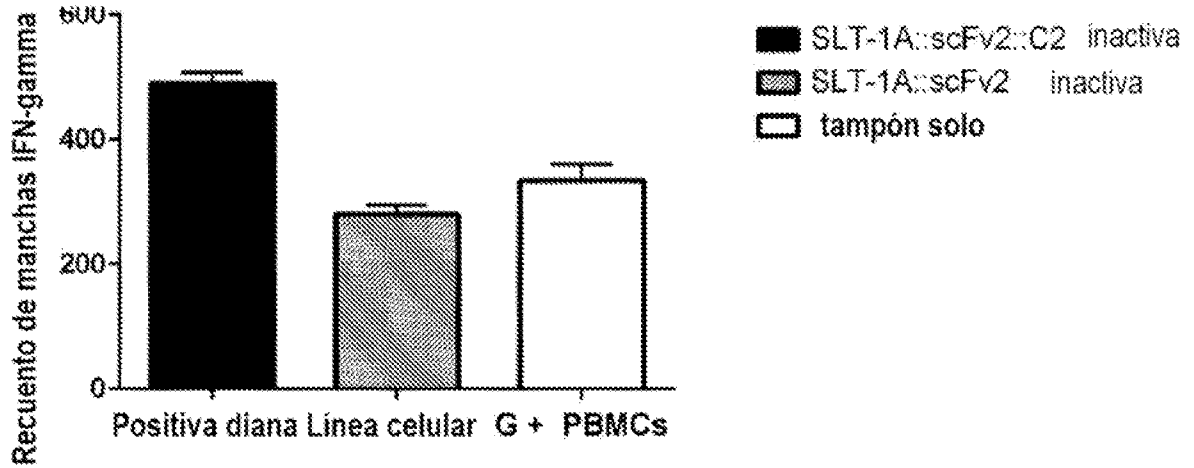


Figura 14. Señal de luz detectada de células T reporteras que reconocen la presentación de epitopo F2 por células de cáncer positiva diana tratadas con "SLTA-1A::scFv6::F2 inactiva"

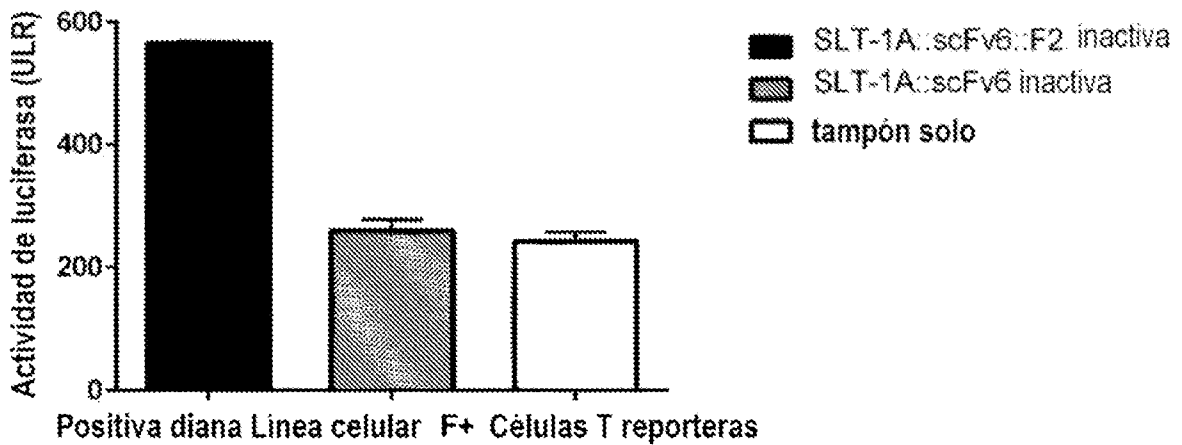


Figura 15. Secreción de interferón gamma por PBMC que reconocen la presentación del epítipo C2 por células de cáncer positivas diana en contacto con "SLTA-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactiva"

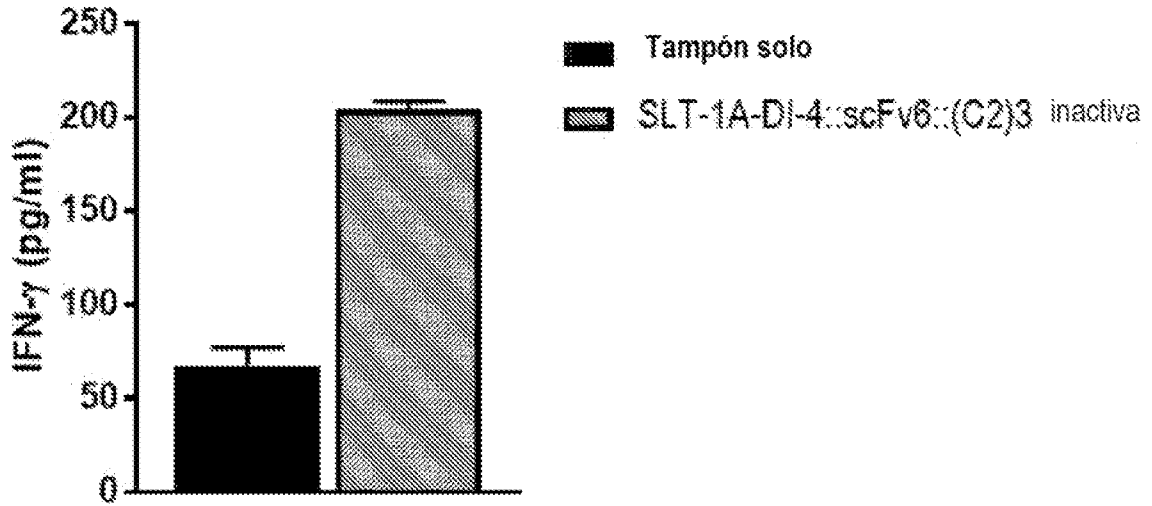


Figura 16. Destrucción mediada por células inmunitarias de células de cáncer positivas diana inducida después de contactar con "SLTA-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactiva"

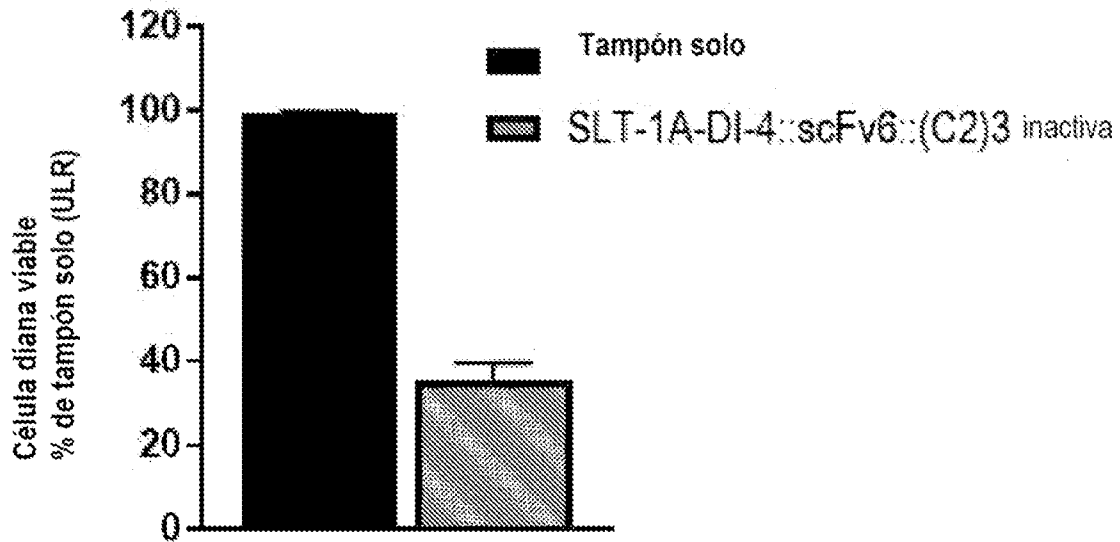


Figura 17. Activación y agrupación de células inmunitarias en presencia de la presentación del epítipo C2 por células de cáncer positivas dianas en contacto con "SLTA-1A-DI-4::scFv6::(C2)3 inactiva"

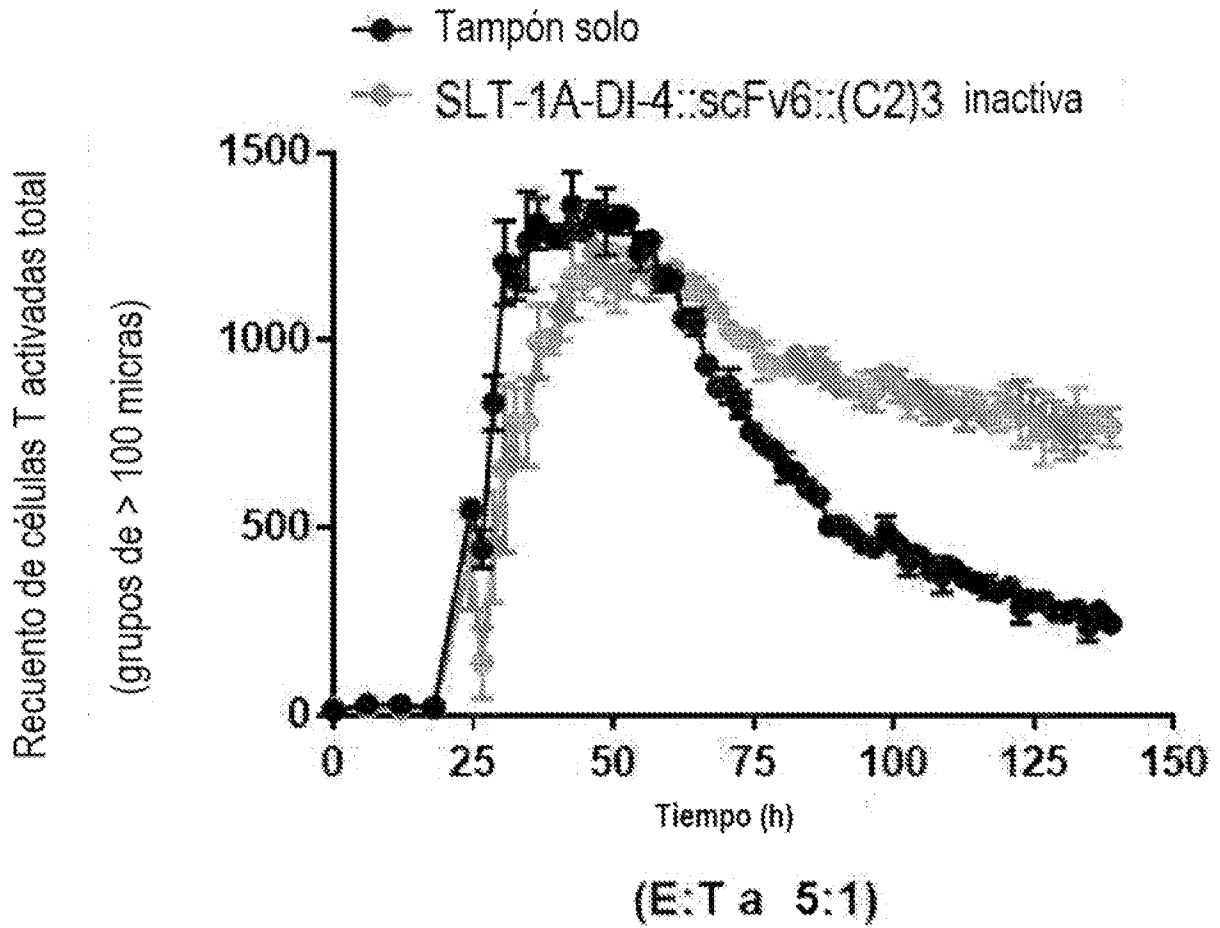


Figura 18. Secreción de interferón gamma por PBMC que reconocen la presentación del epitopo C2 por células de cáncer positivas diana en contacto con "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva"

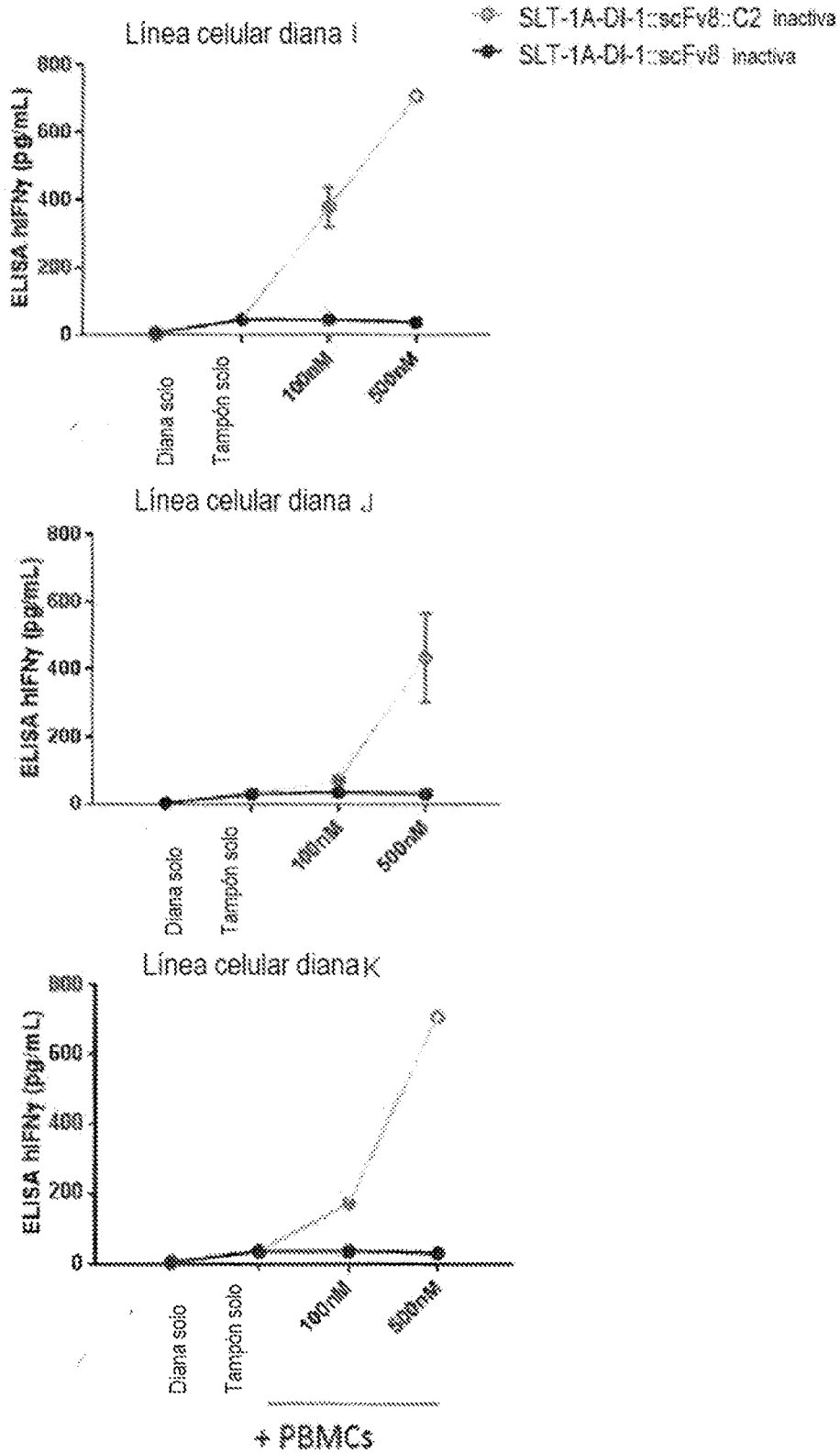


Figura 19. Destrucción de células cancerosas por PBMC que reconocen la presentación del epítopo C2 por células de cáncer positivas diana en contacto con "SLT-1A-DI-1::scFv8::C2 inactiva"

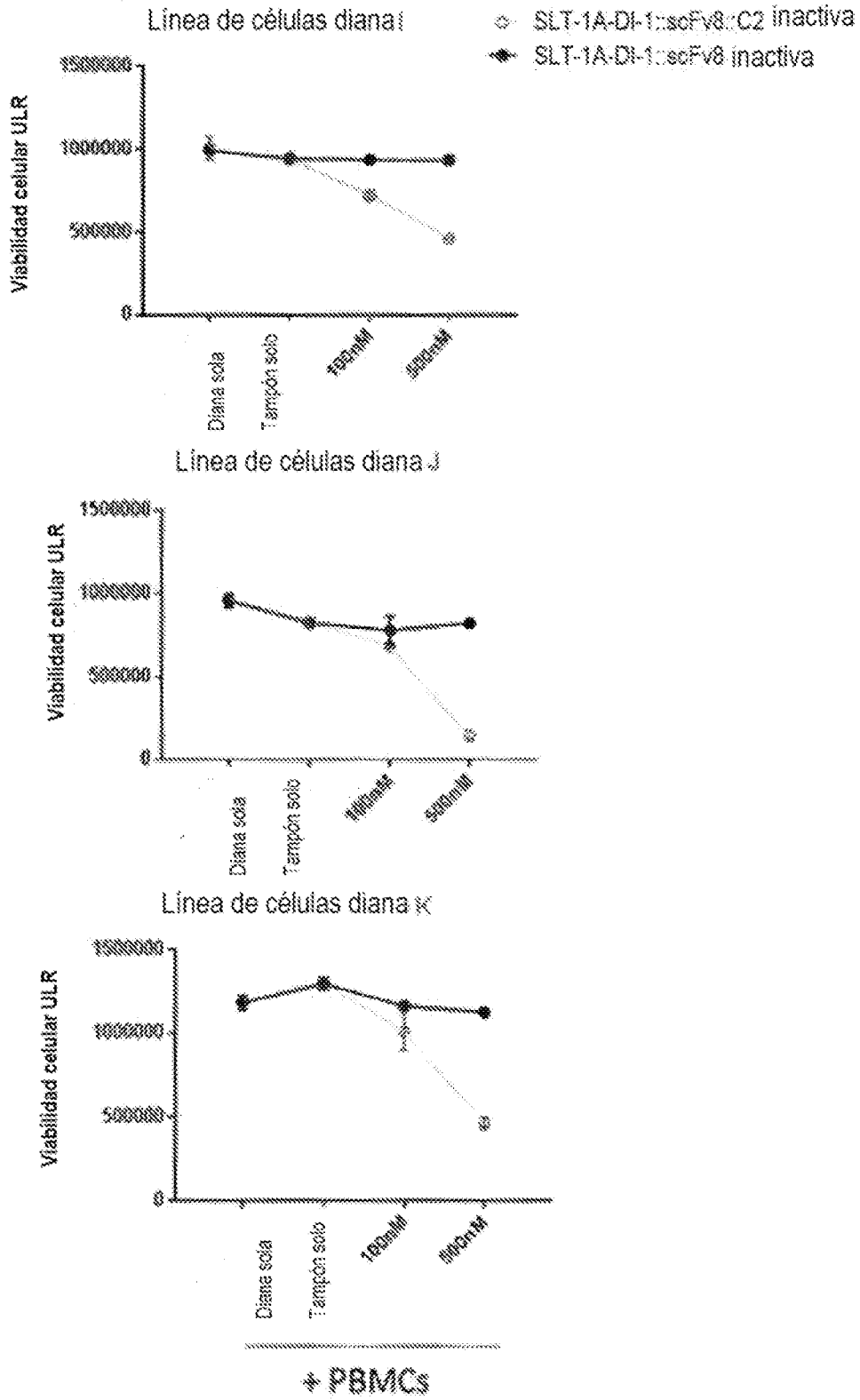


Figura 20. Destrucción de células cancerosas y secreción de interferón gamma por PBMC que reconocen la presentación del epítopo C2 por células de cáncer positivas diana en contacto con SLT-1A-DI-1::scFv8:C2 activa

