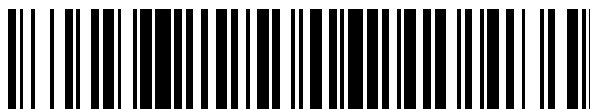


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 173**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

A61K 47/68 (2007.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 14/725 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.03.2015 PCT/GB2015/050643**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.09.2015 WO15132598**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2015 E 15709319 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2019 EP 3125934**

54 Título: **Receptor quimérico de antígeno (CAR) con dominios de unión a antígeno para la región constante de receptores de linfocitos T beta**

30 Prioridad:

05.03.2014 GB 201403905

25.09.2014 GB 201416908

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

04.05.2020

73 Titular/es:

UCL BUSINESS LTD (100.0%)

**The Network Building, 97 Tottenham Court Road
London W1T 4TP, GB**

72 Inventor/es:

PULÉ, MARTIN y

MACIOCIA, PAUL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 758 173 T3

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

DESCRIPCIÓN

Receptor quimérico de antígeno (CAR) con dominios de unión a antígeno para la región constante de receptores de linfocitos T beta

5 Campo de la divulgación

La presente divulgación se refiere a células y agentes útiles en el tratamiento del linfoma o leucemia de linfocitos T.

10 Antecedentes de la divulgación

Las neoplasias malignas linfoides se pueden dividir en gran medida en aquellas que proceden de linfocitos T o linfocitos B. Las neoplasias malignas de linfocitos T son un grupo de trastornos clínica y biológicamente heterogéneos, que juntos comprenden el 10-20 % de los linfomas no Hodgkin y el 20 % de las leucemias agudas. Los subtipos histológicos más comúnmente identificados son el linfoma periférico de linfocitos T, no especificado (PTCL-NOS); el linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T (AITL) y el linfoma anaplásico de células grandes (ALCL). De todas las Leucemias Linfoblásticas Agudas (LLA), alrededor del 20 % son de un fenotipo de linfocitos T.

20 Estas afecciones generalmente se comportan de manera agresiva, en comparación, por ejemplo, con neoplasias malignas de linfocitos B, con una supervivencia estimada de 5 años de solo el 30 %. En el caso de linfomas de linfocitos T, están asociados con una alta proporción de pacientes que presentan enfermedad diseminada, puntuación desfavorable del Indicador de Pronóstico Internacional (IPI) y prevalencia de enfermedad extra ganglionar. La quimioterapia sola no suele ser eficaz y menos del 30 % de los pacientes se curan con los tratamientos actuales.

25 Adicionalmente, a diferencia de las neoplasias malignas de linfocitos B, donde las inmunoterapias, tal como el anticuerpo monoclonal anti-CD20 rituximab, han mejorado drásticamente los resultados, actualmente no existe un agente inmunoterapéutico mínimamente tóxico igualmente eficaz para el tratamiento de las neoplasias malignas de linfocitos T. Una dificultad importante en el desarrollo de la inmunoterapia para los trastornos de linfocitos T es el considerable solapamiento en la expresión de marcadores de linfocitos T clonales y normales, sin un solo antígeno claramente capaz de identificar células clonales (malignas).

El mismo problema existe cuando se dirige a un antígeno de linfocitos pan-B para tratar una neoplasia maligna de linfocitos B. Sin embargo, en este caso, el agotamiento concomitante del compartimento de linfocitos B da como resultado una inmunosupresión relativamente menor que la mayoría de los pacientes tolera fácilmente. Adicionalmente, en las terapias que dan como resultado un agotamiento particularmente a largo plazo del compartimento B normal, su pérdida puede anularse en gran medida por la administración de inmunoglobulina agrupada. La situación es completamente diferente cuando se dirige a neoplasias malignas de linfocitos T. En este caso, el agotamiento concomitante del compartimento de linfocitos T conduce a inmunosupresión grave y toxicidad grave. Adicionalmente, no hay una forma satisfactoria de reducir la pérdida del compartimento de linfocitos T.

40 La toxicidad se ilustra en parte por los efectos clínicos del anticuerpo monoclonal terapéutico Alemtuzumab. Este agente lisa las células que expresan CD52 y tiene cierta eficacia en las neoplasias malignas de linfocitos T. La utilidad de este agente está muy limitada por una profunda inmunodeficiencia celular, en gran parte debido al agotamiento de los linfocitos T, con un riesgo notablemente elevado de infección.

45 Por lo tanto, existe la necesidad de un nuevo método para el tratamiento dirigido de neoplasias malignas de linfocitos T que no esté asociado con las desventajas anteriores.

50 Utilizando el linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), S. Mathas et al. in PNAS, vol. 106, n.º 14, 7 de abril de 2009, páginas 5831-5836, muestra una variación en la expresión de varios genes asociados a linfocitos T, tal como TRBC1. Savoldo, B. et al en Blood, 2007, páginas. 2620-2630 divulga la construcción de un CD30-CAR que es capaz de destruir tanto a células EBV+ autólogas a través de su receptor natural como dianas EBV-/CD30 + a través de sus principales CAR sin restricción por MHC.

55 Descripción de las figuras

Figura 1: Un diagrama del complejo receptor de linfocitos T $\alpha\beta/CD3$. El receptor de linfocitos T se forma a partir de 6 cadenas de proteínas diferentes que deben ensamblarse en el retículo endoplásmico para expresarse sobre la superficie celular. Las cuatro proteínas del complejo CD3 (CD3 ζ , CD3 γ , CD3 ϵ y CD3 δ) envuelven al receptor de linfocitos T (TCR). Este TCR confiere al complejo la especificidad de un antígeno determinado y está compuesto por dos cadenas: TCR α y TCR β . Cada cadena de TCR tiene un componente variable distal a la membrana y un componente constante proximal a la membrana. Casi todos los linfomas de linfocitos T y muchas leucemias de linfocitos T expresan el complejo TCR/CD3.

65 Figura 2: La segregación de la región constante de β de los Receptores de linfocitos T (TRBC)-1 y TRBC2 durante el reordenamiento del receptor de linfocitos T. Cada cadena TCR beta se forma a partir de recombinación genómica

de unas determinadas regiones variables (V), diversidad (D), unión (J) y constantes (TRBC) de β . El genoma humano contiene dos loci de TRBC muy similares y funcionalmente equivalentes conocidos como TRBC1 y TRBC2. Durante el reordenamiento del gen TCR, una región J se recombina con TRBC1 o TRBC2. Este reordenamiento es permanente. Los linfocitos T expresan muchas copias de un único TCR en su superficie, por lo tanto, cada linfocito T expresará un TCR cuya región constante de cadena β está codificada por TRBC1 o TRBC2.

Figura 3: Alineación de TRBC1 y TRBC2 humanos a nivel de aminoácidos. La cadena constante de TCR β codificada por TRBC1 y TRBC2 difiere en solo 4 diferencias de aminoácidos: K/N en la posición 3 de la TRBC; N/K en la posición 4 de la TRBC; F/Y en la posición 36 de la TRBC; V/E en la posición 135 de la TRBC;

Figura 4: Demostración definitiva de que el anticuerpo JOVI-1 se une a TRBC1 pero no a TRBC2. Se utilizó ingeniería genética de las células para demostrar definitivamente que el anticuerpo monoclonal JOVI-1 reconoce la variante TRBC1 de la cadena constante TCR β . Se generó un casete retroviral tricistrónico. Este codificó las cadenas tanto TCR α como TCR β de un TCR humano que reconoce el antígeno de histocompatibilidad menor HA1, junto con el CD34 humano truncado como un gen marcador adecuado. El HA1 TCR es naturalmente TRBC2. Se generó un segundo casete retroviral que era idéntico al primero, excepto que los 4 restos en la región constante de TCR β que diferencian TRBC1 de TRBC2 se cambiaron a los codificados por TRBC1. Los linfocitos T Jurkat que tienen tanto sus cadenas TCR α como TCR β desactivadas se transdujeron con cualquier vector. Estas células se tiñeron con un anticuerpo pan-TCR/CD3 o con el JOVI-1 monoclonal conjugado junto con anticuerpos contra CD34 y se analizaron en un citómetro de flujo. La fila superior muestra la tinción con un anticuerpo pan-TCR/CD3 frente a CD34 (marcador de transducción), la fila inferior muestra la tinción con JOVI-1 frente a CD34. Las células transducidas demuestran una tinción TCR/CD3 similar pero solo las células TRBC1 positivas se tiñen con JOVI-1. Por lo tanto, JOVI-1 es específico para TRBC1 y además es posible usar un anticuerpo para distinguir TRBC1 y 2 TCR.

FIGURA 5: El mAb JOVI-1 diferencia TRBC1 de TRBC2 al reconocer los restos 3 y 4 de la TRBC. Para determinar con precisión cómo JOVI-1 discrimina TRBC1 de TRBC2, la construcción HA1 TCR TRBC2 detallada anteriormente se mutó para producir dos híbridos TRBC1/2. Se generó una variante adicional para que solo los restos 3 y 4 de la cadena constante de TCR β se cambiaran de los de TRBC2 a los encontrados en TRBC1. Se realizó una variante adicional donde solo se cambió el resto 36 del encontrado en TRBC2 al de TRBC1. Los linfocitos T Jurkat con TCR desactivados se transdujeron con estas nuevas construcciones. Los Jurkat transducidos con TRBC2 y TRBC1 originales descritos en la Figura 4 se usaron como controles. Los linfocitos T Jurkat se tiñeron con JOVI-1 y se analizaron con un citómetro de flujo. La tinción de JOVI-1 se superpone sobre la de los linfocitos T Jurkat con TCR desactivados no transducidos. JOVI-1 tiñó Jurkat que expresaban el TCR TRBC1 pero no el TCR TRBC2. JOVI-1 tiñó el híbrido TRBC1/2 donde los restos 3 y 4 de TRBC solo eran los de TRBC1. JOVI-1 no tiñó los linfocitos T Jurkat donde el resto 36 de TRBC solo era el de TRBC1.

FIGURA 6: Ejemplo de expresión de TRBC1 de linfocitos T de donante normal. Las células mononucleares de sangre periférica del donante normal se tiñeron con anticuerpos contra CD3, CD4, CD8 y JOVI-1 y se analizaron por citometría de flujo. Las poblaciones de linfocitos T CD4 $^{+}$ y CD8 $^{+}$ se muestran en el panel superior. Cada una de estas poblaciones se selecciona y la dispersión directa frente a la tinción con JOVI-1 se muestran en los ejes Y y X respectivamente. Estos datos muestran que los compartimientos de CD4 $^{+}$ y CD8 $^{+}$ contienen células que son TRBC1 positivas y negativas. Estos son datos representativos de un donante.

FIGURA 7: Linfocitos T TRBC1 $^{+}$ en varios donantes normales. Se sangraron diez donantes normales y las células mononucleares de sangre periférica se tiñeron como se describe en la figura 4 anterior. Los datos agregados de la proporción de linfocitos T TRBC1 tanto en los compartimientos de CD4 como CD8 se muestran en un gráfico de barras junto con la mediana y el intervalo. Todos los donantes tenían compartimientos TRBC1 $^{+}$ y TRBC1 $^{-}$. Mediana del % de células TRBC1 $^{+}$ = 36 %.

FIGURA 8: Líneas celulares derivadas de neoplasia maligna de linfocitos T teñidas con JOVI-1. Se han derivado varias líneas celulares de neoplasias malignas de linfocitos T. Muchas de estas líneas celulares todavía expresan el TCR. Se seleccionaron Jurkat (una línea celular de leucemia de linfocitos T), HPB-ALL (otra línea celular de leucemia de linfocitos T) y HD-Mar-2 (una línea celular de linfoma de linfocitos T) para el estudio. Al teñir estas líneas celulares con un anticuerpo pan-TCR/CD3, se pudo demostrar que los tres expresan TCR (paneles izquierdos, tinción superpuesta sobre tinción de control de isotipo). A continuación, al teñir con JOVI-1 se pudo determinar que estas líneas de linfocitos T son TRBC1 negativas o positivas. Solo las células Jurkat (TRBC1 $^{+}$) y no las células HPB-ALL o HD-Mar-2 (TRBC2 $^{+}$) se tiñen con JOVI-1, lo que respalda la expresión exclusiva de TRBC1 o 2.

FIGURA 9: Destrucción selectiva de linfocitos T TRBC1 con mAb JOVI-1. Los linfocitos T Jurkat de tipo silvestre (CD34 $^{-}$, TRBC1 $^{+}$) se mezclaron con linfocitos T Jurkat con TCR $\alpha\beta$ desactivado transducidos con TRBC2 expresado conjuntamente con el gen marcador CD34 (CD34 $^{+}$ TRBC2 $^{+}$). Estas células se incubaron con JOVI-1 solo o se incubaron con JOVI-1 y complemento durante 1 hora. Las células se lavaron y se tiñeron para CD34, Anexina V y 7-AAD. Las células se analizaron por citometría de flujo. A continuación se muestra la expresión de CD34 en la población viva tal como se define por la población Anexina- V negativa y 71AAD dim. (a) JOVI-1 solo;

(b) JOVI-1 con complemento. Se observa destrucción selectiva de linfocitos T TRBC1 (CD34-).

FIGURA 10: Los linfocitos T policlonales específicos del virus de Epstein Barr (EBV) se pueden dividir en dos poblaciones de TRBC1/2 aproximadamente iguales. Usando métodos bien establecidos, los presentes inventores expandieron selectivamente linfocitos T específicos de EBV de la sangre periférica de un donante normal. La línea posterior tenía un alto grado de selectividad contra linfocitos B autólogos infectados con EBV (auto LCL), y no tenía actividad contra linfocitos T alogénicos infectados con EBV (alo LCL), y no tenía actividad citolítica inespecífica (según lo medido mediante pruebas contra células K562). Tal línea es representativa de la inmunidad contra EBV del donante. (b) Cuando se tiñeron con JOVI-1, estos linfocitos T se tipificaron aproximadamente por igual para TRBC1 y TRBC2.

FIGURA 11: Secuencia anotada de VH y VL de JOVI-1. Las regiones hipervariables se indican subrayadas y en negrita.

FIGURA 12: Demostración de que un linfoma periférico de linfocitos T está restringido por TRBC, pero los linfocitos T circulantes normales no lo están. Se extrajeron linfocitos T de sangre periférica de un paciente con células de linfoma de linfocitos T circulantes. Las células mononucleares periféricas se aislaron y se tiñeron con un grupo de anticuerpos que incluía CD5, TCR y JOVI-1. Los linfocitos T normales y malignos podrían diferenciarse en el flujo por la intensidad de expresión de CD5. Los CD5 bright (linfocitos T normales) tenían poblaciones TRBC1 y 2 aproximadamente iguales. Las poblaciones de CD5 intermedios y dim (el tumor) fueron todas TRBC2 positivas. Si este paciente recibiera una terapia dirigida a TRBC2, el linfoma se erradicaría y aproximadamente la mitad de sus linfocitos T se salvarían.

FIGURA 13: Demostración de que VH y VL procedentes de JOVI-1 eran correctas y que pueden plegarse como un fragmento variable de cadena sencilla. El sobrenadante de hibridoma original, el anticuerpo JOVI-1 recombinante y scFv-Fc generados a partir de células 293T transfectadas se usaron para teñir una serie de líneas celulares: Jurkat con TCR desactivados, Jurkat de tipo silvestre, Jurkat con TCR desactivados transducidas con un TCR TRBC1 en un vector que expresa conjuntamente eBFP2; Jurkat con TCR desactivados transducidas con un TCR TRBD2 en un vector que expresa conjuntamente eBFP2. La tinción se analizó por citometría de flujo. Las células unidas tanto al anticuerpo recombinante como a scFv expresaron TRBC2.

FIGURA 14: CAR basados en JOVI-1 en diferentes formatos. Los CAR generalmente comprenden un dominio de unión, un espaciador, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular. En este estudio, se generaron CAR que comprenden el scFv de JOVI-1; un espaciador procedente del tallo de CD8, el dominio bisagra-CH2-CH3 de IgG1 humana con mutaciones que eliminan la unión a FcR; o un espaciador procedente de IgG1 humana.

FIGURA 15: Función de CAR basado en JOVI-1. Los linfocitos T de sangre periférica de donante normal se transdujeron con los diferentes CAR descritos anteriormente. Los linfocitos T también se transdujeron con un CAR específico de CD19 como control. Después, estos linfocitos T se sometieron a provocación con células diana: células Jurkat con TCR desactivados y Jurkat de tipo silvestre y Raji (una línea de linfoma de linfocitos B CD19+). Se muestran datos de liberación de cromo de los efectores contra diferentes dianas. Los linfocitos T con CAR de JOVI-1 destruyen células Jurkat pero no a las células Raji o Jurkat con TCR desactivados.

FIGURA 16: Autoeliminación de cultivos de linfocitos T con CAR de JOVI-1. Debido a que los linfocitos T comprenden un número aproximadamente igual de linfocitos T que son TRBC1 o TRBC2 positivos, es posible que después de la introducción de CAR pueda producirse una cierta cantidad de "fratricidio" o autoeliminación del cultivo. Se demostró que este era el caso. En este ejemplo, los linfocitos T con CAR se tiñeron después de la transducción y se analizaron por citometría de flujo. Al comparar transducidos simulados frente a transducidos, se puede observar que la población de linfocitos T pierde linfocitos T TRBC1 positivos.

Figura 17: Investigando la capacidad de clonación de la leucemia de linfocitos T grandes granulares (T-LGL) - Paciente A

Figura 18: Investigando la capacidad de clonación de la leucemia de linfocitos T grandes granulares (T-LGL) - Paciente B

Figura 19: Investigando la capacidad de clonación de la leucemia de linfocitos T grandes granulares (T-LGL) - Paciente C

Figura 20: Investigando la capacidad de clonación de linfoma de linfocitos T policlonales (PCTL) - Paciente D

Figura 21: Estrategias de selección en fagos de péptidos TRBC. A) Dos rondas de selecciones de presentación en fagos en péptidos TRBC inmovilizados directa o indirectamente en una superficie. B) Tres rondas de selecciones de presentación en fagos en fase de solución en péptidos TRBC biotinilados.

Figura 22: Análisis de resultados de fagos policlonales a partir de selecciones de presentación en fagos de péptidos TRBC. Ensayo de unión a TRF usando fagos policlonales de selecciones en fase sólida llevadas a cabo en péptidos TRBC directamente inmovilizados como conjugados BSA/OA (A), selecciones en fase sólida en péptidos TRBC inmovilizados en estreptavidina/neutravidina (B) y de selecciones en fase de solución (C).

Figura 23: Representación esquemática del vector pSANG10-3F. El gen que codifica el anticuerpo de cadena sencilla (scFv) se clona en el sitio NcoI/NotI cadena abajo del promotor T7 y el líder pelB (para la translocación periplásmica). El vector también contiene una etiqueta de hexahistidina C-terminal (His6) para la purificación y detección de la etiqueta tri-FLAG.

Figura 24: Exploración primaria para aglutinantes específicos para TRBC1 y TRBC2. Unión de 94 scFv de las selecciones de TRBC1 (A) y TRBC2 (B) a TRBC1 y TRBC2 (0,5 µg/ml) biotinilados inmovilizados sobre placas de 96 pocillos Nunc Maxisorp™ recubiertas con neutravidina (10 µg/ml). La unión de scFv a los péptidos inmovilizados se detectó usando un anticuerpo antiFLAG conjugado con europio.

Figura 25: Unión de sueros de anticuerpos policlonales de conejo número 13174 inmunizado con TRBC1 contra péptidos TRBC1 y TRBC2. (A) Después de la 3ª inmunización (B) Después de la 3ª inmunización y purificación de anticuerpos específicos de TRBC1.

Figura 26: Unión de sueros de anticuerpos policlonales de conejo número 17363 inmunizado con péptido TRBC2 contra péptidos TRBC1 y TRBC2. (A) Después de la 3ª inmunización (B) Después de la 3ª inmunización y purificación de anticuerpos específicos de TRBC2.

Figura 27: Unión de sueros de anticuerpos policlonales de conejo número 17364 inmunizado con péptido TRBC2 contra péptidos TRBC1 y TRBC2. (A) Después de la 3ª inmunización (B) Después de la 3ª inmunización y purificación de anticuerpos específicos de TRBC2.

Sumario de aspectos de la divulgación

Los presentes inventores han ideado un método mediante el cual es posible agotar los linfocitos T malignos en un sujeto, sin afectar una proporción significativa de linfocitos T sanos. En particular, los presentes inventores han desarrollado receptores quiméricos de antígeno (CAR) específicos de TRBC1 y TRBC2 para su uso en el tratamiento de neoplasias malignas de linfocitos T.

Por lo tanto, en un primer aspecto, la presente divulgación proporciona un receptor quimérico de antígeno (CAR) que comprende un dominio de unión a antígeno que se une selectivamente a la región constante de TCR beta 1 (TRBC1) o a TRBC2.

En un primer aspecto del primer aspecto de la divulgación, se proporciona un CAR que se une selectivamente a TRBC1. En este aspecto, el CAR puede comprender un dominio de unión a antígeno que tiene una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que comprende las siguientes regiones determinantes de complementariedad (CDR):

CDR1 de VH: SEQ ID NO: 7;
CDR2 de VH: SEQ ID NO: 8;
CDR3 de VH: SEQ ID NO: 9;
CDR1 de VL: SEQ ID NO: 10;
CDR2 de VL: SEQ ID NO: 11; y
CDR3 de VL: SEQ ID NO: 12.

El CAR puede comprender un dominio de unión a antígeno que comprende una cadena pesada variable (VH) que tiene la secuencia mostrada como la SEQ ID NO: 1 y una cadena ligera variable (VL) que tiene la secuencia mostrada como la SEQ ID NO: 2.

El CAR puede comprender un dominio de unión a antígeno que comprende un scFv que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 3.

El CAR puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 33, 34 y 35.

El CAR puede comprender una CDR3 de VH y/o una CDR3 de VL de las enumeradas en la Tabla 1. El CAR puede comprender un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que comprende:

- (i) la CDR3 de cadena pesada y/o la CDR3 de cadena ligera;
- (ii) la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y/o la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera; o
- (iii) la cadena pesada variable (VH) y/o la cadena ligera variable (VL);

de uno de los scFv mostrados como la SEQ ID NO: 13 a 22.

En un segundo aspecto del primer aspecto de la divulgación, se proporciona un CAR que se une selectivamente a TRBC2.

En relación con este aspecto, el CAR puede comprender una CDR3 de VH y/o una CDR3 de VL de las enumeradas en la Tabla 2.

El CAR puede comprender un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que comprende:

- (i) la CDR3 de cadena pesada y/o la CDR3 de cadena ligera;
- (ii) la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y/o la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera; o
- (iii) la cadena pesada variable (VH) y/o la cadena ligera variable (VL);

de uno de los scFv mostrados como la SEQ ID NO: 23 a 32.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una secuencia del ácido nucleico que codifica un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la invención.

En un tercer aspecto, se proporciona un vector que comprende una secuencia del ácido nucleico de acuerdo con el segundo aspecto de la invención.

En un cuarto aspecto, se proporciona una célula que expresa un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la invención. La célula puede ser una célula inmunitaria citolítica, tal como un linfocito T o linfocito citolítico natural (NK).

En un quinto aspecto, se proporciona un método para producir una célula según el cuarto aspecto de la invención que comprende la etapa de transducir o transfectar una célula con una secuencia del ácido nucleico de acuerdo con el segundo aspecto de la invención o con un vector de acuerdo con el tercer aspecto de la invención.

En un sexto aspecto, se proporciona una célula de acuerdo con el cuarto aspecto de la invención para su uso en un método para tratar un linfoma o una leucemia de linfocitos T en un sujeto que comprende la etapa de administrar la célula que comprende el CAR selectivo para TCRB1 o TCRB2 al sujeto, para provocar el agotamiento selectivo de los linfocitos T malignos, junto con los linfocitos T normales que expresan la misma TRBC que los linfocitos T malignos, pero no para provocar el agotamiento de los linfocitos T normales que expresan la TRBC no expresada por los linfocitos T malignos.

El método también puede comprender la etapa de investigar la región constante de TCR beta (TCRB) de un linfocito T maligno del sujeto para determinar si expresa TRBC1 o TRBC2.

También se describe un método para tratar un linfoma o leucemia de linfocitos T en un sujeto que comprende la etapa de administrar un agente selectivo para TCRB1 o TCRB2 al sujeto, en el que el agente provoca el agotamiento selectivo de los linfocitos T malignos, junto con los linfocitos T normales que expresan la misma TRBC que los linfocitos T malignos, pero no provoca el agotamiento de los linfocitos T normales que expresan la TRBC no expresada por los linfocitos T malignos.

En un primer aspecto del presente aspecto de la divulgación, el agente es un agente selectivo de TCRB1. En un segundo aspecto del presente aspecto de la divulgación, el agente es un agente selectivo de TRBC2.

El método también puede comprender la etapa de investigar la región constante de TCR beta (TRBC) de un linfocito T maligno para determinar si expresa TRBC1 o TRBC2, antes de la etapa de administración.

El agente puede ser un anticuerpo monoclonal agotador o un fragmento del mismo. El agente puede ser un anticuerpo conjugado, que puede comprender una entidad quimioterapéutica.

El agente puede ser un activador de linfocitos T biespecífico. El agente puede ser un receptor quimérico de antígeno (CAR) que expresa linfocitos T. El CAR puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 33, 34 y 35.

El agente puede comprender el anticuerpo JOVI-1 o un fragmento funcional del mismo.

El agente puede comprender un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo que tiene una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que comprende las siguientes regiones determinantes de complementariedad (CDR):

- CDR1 de VH: SEQ ID NO: 7;
- CDR2 de VH: SEQ ID NO: 8;

CDR3 de VH: SEQ ID NO: 9;
 CDR1 de VL: SEQ ID NO: 10;
 CDR2 de VL: SEQ ID NO: 11; y
 CDR3 de VL: SEQ ID NO: 12.

5

El agente puede comprender un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que comprende una cadena pesada variable (VH) que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 1 y una cadena ligera variable (VL) que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 2.

10 El agente puede comprender un ScFv que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 3. El agente puede proporcionarse como una composición farmacéutica.

El linfoma o leucemia de linfocitos T puede seleccionarse entre linfoma periférico de linfocitos T, no especificado (PTCL-NOS); linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T (AITL), linfoma anaplásico de células grandes (ALCL),
 15 linfoma de linfocitos T asociado a enteropatía (EATL), linfoma hepatoesplénico de linfocitos T (HSTL), linfoma de linfocitos NK/T extraganglionar de tipo nasal, linfoma cutáneo de linfocitos T, ALCL cutáneo primario, leucemia prolinfocítica de linfocitos T y leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T.

La presente divulgación también proporciona un agente para su uso en el tratamiento de un linfoma o leucemia de
 20 linfocitos T de acuerdo con dicho método.

La presente divulgación también proporciona un kit que comprende un agente para su uso como se define anteriormente.

25 La presente divulgación también proporciona el uso de un agente en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un linfoma o leucemia de linfocitos T de acuerdo con el método anterior.

La presente divulgación también proporciona un método para diagnosticar un linfoma o leucemia de linfocitos T en un sujeto que comprende la etapa de determinar el porcentaje de linfocitos T totales en una muestra que son TRBC1 o
 30 TRBC2 positivos.

Un porcentaje de linfocitos T TRBC1 o TRBC2 positivos que es mayor de aproximadamente un 80 % puede indicar la presencia de un linfoma o leucemia de linfocitos T.

35 La muestra puede ser una muestra de sangre periférica o una biopsia.

El agente que se une a la totalidad de los linfocitos T puede unirse a CD3.

Descripción detallada

40

La presente divulgación proporciona agentes, tales como los receptores quiméricos de antígeno (CAR) que se unen selectivamente a TRBC1 o TRBC2. Tales agentes son útiles en métodos para tratar un linfoma o leucemia de linfocitos T en un sujeto. Las neoplasias malignas de linfocitos T son clonales, por lo que expresan TRBC1 o TRBC2. Al administrar un agente selectivo de TCRB1 o TCRB2 al sujeto, el agente provoca un agotamiento selectivo de los
 45 linfocitos T malignos, junto con los linfocitos T normales que expresan la misma TRBC que los linfocitos T malignos, pero no provoca el agotamiento de los linfocitos T normales que expresan la TRBC no expresada por los linfocitos T malignos.

REGIÓN CONSTANTE de TCR β (TRBC)

50

El receptor de linfocitos T (TCR) se expresa en la superficie de los linfocitos T y es responsable de reconocer los antígenos unidos a las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Cuando el TCR se acopla con el péptido antigénico y el MHC (péptido/MHC), el linfocito T se activa a través de una serie de eventos bioquímicos mediados por enzimas asociadas, correceptores, moléculas adaptadoras especializadas y factores de transcripción
 55 activados o liberados.

El TCR es un heterodímero anclado en la membrana unido por disulfuro que normalmente consiste en las cadenas alfa (α) y beta (β) altamente variables expresadas como parte de un complejo con las moléculas de cadena CD3 invariantes. Los linfocitos T que expresan este receptor se denominan linfocitos T $\alpha\beta$ (o $\alpha\beta$) (-95 % de linfocitos T
 60 totales). Una minoría de linfocitos T expresan un receptor alternativo, formado por cadenas gamma (γ) y delta (δ) variables, y se denominan linfocitos T $\gamma\delta$ (-5 % de linfocitos T totales).

Cada cadena α y β está compuesta por dos dominios extracelulares: Una región Variable (V) y una región Constante (C), ambas del dominio de la superfamilia de inmunoglobulinas (IgSF) formando láminas β antiparalelas. La región constante está proximal a la membrana celular, seguida de una región transmembrana y una cola citoplasmática corta, mientras que la región variable se une al complejo péptido/MHC (véase la Figura 1). La región constante del TCR

consiste en secuencias de conexión cortas en las que un resto de cisteína forma enlaces disulfuro, que forman un enlace entre las dos cadenas.

5 Los dominios variables tanto de la cadena α como de la cadena β de TCR tienen tres regiones hipervariables o determinantes de la complementariedad (CDR). La región variable de la cadena β también tiene un área adicional de hipervariabilidad (HV4), sin embargo, esta normalmente no entra en contacto con el antígeno y, por lo tanto, no se considera una CDR.

10 El TCR también comprende hasta cinco cadenas invariantes γ , δ , ϵ (denominadas colectivamente CD3) y ζ . Las CD3 y subunidades ζ median la señalización de TCR a través de dominios citoplasmáticos específicos que interactúan con el segundo mensajero y las moléculas adaptadoras después del reconocimiento del antígeno por $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$. La expresión en la superficie celular del complejo TCR está precedida por el ensamblaje de subunidades por pares en el que desempeñan un papel tanto el dominio transmembrana como el extracelular de TCR α y β y CD3 γ y δ .

15 Por lo tanto, los TCR se componen comúnmente del complejo CD3 y las cadenas TCR α y β , que a su vez se componen de regiones variables y constantes (Figura 1).

20 El locus (Chr7:q34) que suministra la región constante de β de TCR (TRBC) se ha duplicado en la historia evolutiva para producir dos genes casi idénticos y funcionalmente equivalentes: *TRBC1* y *TRBC2* (Figura 2), que difieren solo en 4 aminoácidos en la proteína madura producida por cada uno (Figura 3). Cada TCR comprenderá, de manera mutuamente excluyente, TRBC1 o TRBC2 y, como tal, cada linfocito T $\alpha\beta$ expresará TRBC1 o TRBC2, de una manera mutuamente excluyente.

25 Los presentes inventores han determinado que, a pesar de la similitud entre la secuencia de TRBC1 y TRBC2, es posible discriminar entre ellos. Los presentes inventores también han determinado que las secuencias de aminoácidos de TRBC1 y TRBC2 pueden discriminarse *in situ* sobre la superficie de una célula, por ejemplo, un linfocito T.

CÉLULAS MALIGNAS

30 El término "maligno" se usa en el presente documento de acuerdo con su significado habitual para referirse a una célula que no está autolimitada en su crecimiento, puede ser capaz de invadir tejidos adyacentes y puede propagarse a un tejido distante. Como tal, la expresión "linfocito T maligno" se usa en el presente documento para referirse a un linfocito T expandido clonalmente en el contexto de un linfoma o leucemia.

35 La presente invención implica determinar la TRBC de un linfocito T maligno. Esto puede realizarse usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede determinarse mediante PCR, transferencia de Western, citometría de flujo o métodos de microscopía fluorescente.

40 Una vez que se ha determinado la TRBC expresada por un linfocito T maligno, se administra al sujeto el agente selectivo de TRBC1 o TRBC2 apropiado. El "agente selectivo de TRBC apropiado" significa que cuando se determina que el linfocito T maligno expresa TRBC1, se administra un agente selectivo de TRBC1, mientras que cuando se determina que el linfocito T maligno expresa TRBC2, se administra un agente selectivo de TRBC2.

AGENTE SELECTIVO

45 El agente selectivo se une a TRBC1 o TRBC2 de una manera mutuamente excluyente.

50 Como se indica anteriormente, cada linfocito T $\alpha\beta$ expresa un TCR que comprende TRBC1 o TRBC2. En un trastorno clonal de linfocitos T, como un linfoma o leucemia de linfocitos T, los linfocitos T malignos derivados del mismo clon expresarán TRBC1 o TRBC2.

55 Por lo tanto, la presente divulgación comprende la etapa de administrar un agente selectivo de TRBC1 o TRBC2 al sujeto, en el que el agente provoca el agotamiento selectivo de los linfocitos T malignos, junto con los linfocitos T normales que expresan la misma TRBC que los linfocitos T malignos, pero no provoca el agotamiento significativo de los linfocitos T normales que expresan la TRBC diferente a la de los linfocitos T malignos.

60 Debido a que el agente selectivo de TRBC no provoca un agotamiento significativo de los linfocitos T normales que expresan la TRBC diferente a la de los linfocitos T malignos, no provoca el agotamiento de todo el compartimento de linfocitos T. La retención de una proporción del compartimento de linfocitos T del sujeto (es decir, linfocitos T que no expresan la misma TRBC que los linfocitos T malignos) da como resultado una toxicidad reducida y una inmunodeficiencia celular y humoral reducida, reduciendo así el riesgo de infección.

65 La administración de un agente selectivo de TRBC1 de acuerdo con la presente divulgación puede dar como resultado un agotamiento del 5, 10, 20, 50, 75, 90, 95 o 99 %, es decir, reducción en el número de linfocitos T que expresan TRBC1.

La administración de un agente selectivo de TRBC2 de acuerdo con la presente divulgación puede dar como resultado un agotamiento del 5, 10, 20, 50, 75, 90, 95 o 99 %, es decir, reducción en el número de linfocitos T que expresan TRBC2.

- 5 Un agente selectivo de TRBC1 puede unirse a TRBC1 con una afinidad al menos 2 veces, 4 veces, 5 veces, 7 veces o 10 veces mayor que a TRBC2. De manera análoga, un agente selectivo de TRBC2 puede unirse a TRBC2 con una afinidad al menos 2 veces, 4 veces, 5 veces, 7 veces o 10 veces mayor que a TRBC1.

- 10 Un agente selectivo de TRBC1 provoca el agotamiento de una mayor proporción de linfocitos T que expresan TRBC1 en la población celular que de linfocitos que expresan TRBC2. Por ejemplo, la relación de agotamiento de los linfocitos T que expresan TRBC1 a los linfocitos que expresan TRBC2 puede ser al menos 60 %:40 %, 70 %:30 %, 80 %:20 %, 90 %:10 % o 95 %:5 %. De manera análoga, un agente selectivo de TRBC2 provoca el agotamiento de una mayor proporción de linfocitos T que expresan TRBC2 en la población celular que de linfocitos que expresan TRBC1. Por ejemplo, la relación de agotamiento de los linfocitos T que expresan TRBC2 a los linfocitos que expresan TRBC1 puede ser al menos 60 %:40 %, 70 %: 30 %, 80 %:20 %, 90 %:10 % o 95 %:5 %.

- 20 Usando el método de la divulgación, los linfocitos T malignos se eliminan en un sujeto, sin afectar una proporción significativa de linfocitos T sanos. Por "una proporción significativa" se entiende que una proporción suficiente de linfocitos T que expresan la TRBC diferente de la de los linfocitos T malignos sobreviven para mantener la función de los linfocitos T en el sujeto. El agente puede provocar un agotamiento de menos del 20 %, 15 %, 10 % o 5 % de la población de linfocitos T que expresa la otra TCRB.

- El agente selectivo puede ser selectivo para TRBC1 o TRBC2 porque discrimina los restos que se enumeran a continuación:

- 25 (i) N de K en la posición 3 de la TRBC;
(ii) K de N en la posición 3 de la TRBC;
(iii) K de N en la posición 4 de la TRBC;
(iv) N de K en la posición 4 de la TRBC;
30 (v) F de Y en la posición 36 de la TRBC;
(vi) Y de F en la posición 36 de la TRBC;
(vii) V de E en la posición 135 de la TRBC; y/o
(viii) E de V en la posición 135 de la TRBC.

- 35 El agente selectivo puede discriminar cualquier combinación de las diferencias anteriores.

ANTICUERPO

- 40 El agente usado en el método de la presente divulgación puede ser un anticuerpo monoclonal (mAb) agotador o un fragmento funcional del mismo, o un mimético de anticuerpo.

- 45 La expresión 'anticuerpo agotador' se usa en el sentido convencional para referirse a un anticuerpo que se une a un antígeno presente en un linfocito T diana y media la muerte del linfocito T diana. Por lo tanto, la administración de un anticuerpo agotador a un sujeto da como resultado una reducción/disminución en el número de células dentro del sujeto que expresan el antígeno diana.

- 50 Como se usa en el presente documento, "anticuerpo" significa un polipéptido que tiene un sitio de unión a antígeno que comprende al menos una región determinante de complementariedad CDR. El anticuerpo puede comprender 3 CDR y tener un sitio de unión a antígeno que es equivalente al de un anticuerpo de un dominio (dAb). El anticuerpo puede comprender 6 CDR y tener un sitio de unión a antígeno que es equivalente al de una molécula de anticuerpo clásica. El resto del polipéptido puede ser cualquier secuencia que proporcione un armazón adecuado para el sitio de unión a antígeno y lo presente de una manera apropiada para que se una al antígeno. El anticuerpo puede ser una molécula de inmunoglobulina completa o una parte de la misma, tal como un Fab, F(ab)'2, Fv, un fragmento Fv monocaténario (scFv) o un nanocuerpo. El anticuerpo puede ser un anticuerpo bifuncional. El anticuerpo puede ser 55 no humano, quimérico, humanizado o completamente humano.

Por lo tanto, el anticuerpo puede ser cualquier fragmento funcional que conserve la especificidad antigénica del anticuerpo completo.

60 ANTICUERPOS SELECTIVOS DE TRBC1

- El agente de la presente invención para SU uso en el método de la presente divulgación puede comprender un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo que tiene una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que comprende una o más de las siguientes regiones determinantes de complementariedad (CDR):

- 65 CDR1 de VH: GYTFTGY (SEQ ID NO: 7);

CDR2 de VH: NPYNDD (SEQ ID NO: 8);
 CDR3 de VH: GAGYNFDGAYRFFDF (SEQ ID NO: 9);
 CDR1 de VL: RSSQRLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 10);
 CDR2 de VL: RVSNRFP (SEQ ID NO: 11); y
 CDR3 de VL: SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 12).

5

La una o más CDR, cada una de manera independiente, puede o no comprender una o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones) en comparación con las secuencias proporcionadas como las SEQ ID NO: 7 a 12, siempre que el anticuerpo resultante conserve la capacidad de unirse selectivamente a TRBC1.

10

Los estudios han demostrado que las CDR L3 y H3 son las principales responsables de las interacciones de alta energía con el antígeno, por lo que el anticuerpo o fragmento funcional del mismo, puede comprender CDR3 de VH y/o CDR3 de VL como se describe anteriormente.

15

Usando presentación en fagos, se han identificado varios dominios de unión a anticuerpos adicionales que son altamente selectivos para unirse a TRBC1 sobre TRBC2, como se describe en el Ejemplo 12.

20

El agente puede comprender un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo que tiene una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que comprende una o más de las regiones determinantes de complementariedad (CDR3) mostradas en la Tabla 1.

Tabla 1

ID del clon	ID de VH de la línea germinal	ID de VL de la línea germinal	CDR3 de Pesada	CDR3 de Ligera	Unión a TRBC1 Unión a TRBC2
CP 01 E09	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,08)	AHNSSSWSF.....DY	QQYDNLP.....LT	403248 : 318
CP 01 D12	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 L12	GGDTYGL.....DN	QQFNAYP.....LT	392753 : 298
CP 01 D10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,02)	GGSGFGAF.....DI	QQYNSYP.....LT	370612 : 306
CP 01 C08	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,08)	GYSSSWYL.....DY	QQYDNLP.....LT	352834 : 426
CP 01 C11	Vh1 DP-8,75 (1-02)	Vlambda6 6a	GGAG.....WN	QSHDSSN.....VV	349231 : 622
CP 01 F03	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,08)	GYXASWSQ.....GL	QQYDNLP.....PT	335088 : 306
CP 01 E07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK12 (A2)	DLGGSGGAF.....DI	MQSIQL.....YT	332307 : 394
CP 01 D03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk3 DPK21 (L2)	NKQYGM.....DV	QQYHRWP.....LT	327666 : 452
CP 01 F06	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	DDGAM.....RY	QQYD5P.....YT	325058 : 286
CP 01 F02	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 A30	AGYSYA.....DY	LQHNSYP.....LT	301955 : 508
CP 02 C03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	GGYSSNYF.....DY	QQYFGT.....PT	274905 : 374
CP 02 D10	Vh3 DP-50 (3-33)	Vk3 L16	VGGESAM.....DV	QQYNDWP.....LT	259096 : 517
CP 02 B01	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	VSSHYDSSGYAGGF.....DY	QSFDTNSL.....WV	258840 : 341
CP 02 D02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,08)	GRDSSSWSP.....AY	QQYDNLP.....LT	256223 : 393
CP 02 A02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda2 DPL11 (2a2)	VTTYSLDF.....DY	SSYSSST.....VV	252590 : 385
CP 02 D04	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK9 (O12,02)	KGAVVPGAI.....DY	QQYNSYP.....LT	252076 : 493
CP 01 F10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,02)	NSLYGGNSA.....DL	QQTFTPT.....IT	238172 : 679
CP 01 H08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,08)	DGGGGRF.....DY	QQYDNLP.....LT	223591 : 381
CP 01 F11	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	GGGALGRGM.....DV	QSYDTNN.....VV	222976 : 481
CP 01 F09	Vh5 DP-73 (5-51)	Vk1 DPK9 (O12,02)	LLRSGGQSYAF.....DI	QQSYSTP.....LT	217934 : 308
CP 02 D05	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,08)	GYSSWSF.....DY	QQYDNLP.....IT	212579 : 440
CP 02 A09	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,08)	AGSGSWTL.....DY	QQYDNLP.....LT	202054 : 336
CP 02 D03	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,08)	DKGWGF.....DY	QQYDNLP.....LT	199403 : 543
CP 02 C11	Vh5 DP-73 (5-51)	Vlambda6 6a	LGVVRYGVMKGF.....DY	QSYDSSN.....VV	189481 : 392
CP 01 H10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,08)	SSYSSWGM.....DV	QQYDNLP.....LT	179830 : 424
CP 02 C04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,02)	ANSWSAGGM.....DV	QQYDDL.....LT	172937 : 722
CP 01 G03	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk2 DPK13 (O11,01)	ERGRGYSYM.....DV	MQRIFP.....LT	168169 : 360
CP 01 G06	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	VARGIHDAF.....DI	QSYDNTRH.....WV	166703 : 307
CP 01 D06	Vh1 DP-8,75 (1-02)	Vlambda6 6a	RHGM.....DV	QSYDSSN.....VV	162783 : 287
CP 02 B03	Vh5 DP-73 (5-51)	Vlambda6 6a	FDSSGYF.....DY	QSYDSSN.....VV	158809 : 312
CP 02 A12	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk3 DPK21 (L2)	DLVTTGAF.....DT	QQHNDWP.....LT	152968 : 280
CP 01 H03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	AIRVSGTPENG.....DV	QSYHSSN.....WV	151902 : 590
CP 01 G08	Vh6 DP-74 (6-1)	Vk2 DPK16 (A23)	VRITHGM.....DI	MQATHFP.....QT	137502 : 736
CP 01 A06	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	GKLA.....DI	QQYYSTP.....YT	136525 : 354
CP 02 A04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	NGDSGGYHTSPNWF.....XL	QSYDSSN.....WV	130318 : 385
CP 01 F08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda2 2c	VSTDSSSM.....DV	SSYAGSNTL.....VV	126690 : 545
CP 01 A08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK6 (L19)	TSQDPGAF.....DI	QQANSFP.....LT	117913 : 270
CP 01 D01	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	AESGVSSNGM.....DV	QSYDSSN.....WV	116603 : 204
CP 02 A07	Vh3 DP-50 (3-33)	Vlambda6 6a	VDRVRSGM.....DV	QSYDSH.....WV	105730 : 496
CP 02 B08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	IGQYCSSTCYM.....DV	QSYDSSTH.....WV	96003 : 795
CP 01 D09	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,08)	DLGGSGGAF.....DI	QQYDNLP.....LT	92079 : 282
CP 01 G07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	DSBAGFY.....DL	QSFTSSYL.....YV	77222 : 313
CP 01 A05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk3 DPK21 (L2)	ASIVASGAF.....DI	QQYKWP.....LT	75698 : 705
CP 02 A08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	AGGSNAF.....DI	QSYDSSN.....WV	73410 : 295
CP 02 D07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VSTDSSGRNWF.....DP	QSYDSSN.....WV	72274 : 367
CP 01 C04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,02)	QYTSRLAYYYHYM.....DV	QQSYSTP.....RT	65702 : 286
CP 01 A07	Vh1 DP-8,75 (1-02)	Vlambda3 DPL16 (3l)	GIRGAF.....DI	NSRDSSGNPN.....WV	63917 : 238
CP 01 H02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VGVSTQL.....DY	QSYDSSN.....WV	63410 : 266
CP 01 F10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	MAGSYAF.....DI	QSYDSSN.....WV	58027 : 372
CP 02 C10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda1 DPL2 (1c)	VGDYDSSGYLDWYF.....DL	AVWDDRLNG.....WV	53460 : 488
CP 02 B05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 L12	GSDTTSFVS.....DY	QQYDSSY.....LT	51480 : 315
CP 01 G04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda3 3p	AGHYYYM.....DV	QSADSSGTN.....MV	50811 : 354
CP 01 F08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VTGYPDYDSSGF.....DY	QSYDSSN.....WV	43115 : 562
CP 01 G05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VEGGPPYF.....DH	QSYDTRNQ.....WV	47289 : 409
CP 02 A03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	NGLDNYGM.....DV	QQYYSTP.....YT	39382 : 322
CP 01 B09	Vh5 DP-73 (5-51)	Vk1 DPK9 (O12,02)	LGTIKRAF.....DI	QQSYSTP.....RT	38766 : 803
CP 01 A10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda1 DPL3 (1g)	VYVHEGM.....DV	AAWDDSLF.....WL	38613 : 298
CP 01 H04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK13 (O11,01)	WSGSGF.....DY	MQRIFP.....LT	34030 : 305
CP 02 B04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	DVGWGGAF.....DI	QQYNTPT.....LI	30975 : 348
CP 02 A05	Vh5 DP-73 (5-51)	Vlambda6 6a	VGGTQHL.....DY	QSYDSSN.....WV	30140 : 309
CP 01 F07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	NWLLYGGDPQNAF.....DI	QSYDSTN.....WV	29443 : 331
CP 01 H01	Vh5 DP-73 (5-51)	Vk1 DPK9 (O12,02)	LYFDWFAQSQNAF.....DI	QQSYSTP.....LT	26847 : 349
CP 01 G10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda3 DPL16 (3l)	VGVQLLYADYF.....DY	NSRDSSGNH.....LV	26520 : 360
CP 01 G11	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,02)	GAMGL.....DY	QQSYSTP.....FT	26087 : 292
CP 01 G01	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda3 DPL16 (3l)	VYVLSGVHAF.....DV	DSRDTRVNX.....WI	25464 : 423
CP 01 A12	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,08)	TERWLQF.....DY	QQYDNL.....PS	23458 : 331
CP 01 H05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK15 (A19,A3)	NGDYAF.....DY	MQALQTP.....YT	20298 : 322
CP 02 B07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	ASRYSGSYHF.....DY	QSYDSSN.....VV	19598 : 217
CP 01 G09	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda2 DPL11 (2a2)	HGSGGGF.....DI	SSYSSST.....LV	18725 : 449
CP 02 C02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK15 (A19,A3)	VGVYMGGM.....DV	MQALQTP.....YT	18320 : 468
CP 01 D05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	NTPGIAAGP.....DS	QSYDSTNH.....WV	17240 : 299
CP 01 D08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VGTTTVTSF.....DY	QSYDSANL.....WV	16499 : 291
CP 02 A11	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	VGGPLNDAF.....DI	QSFDENIS.....WV	13370 : 329
CP 02 D08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk3 DPK22 (A27)	HSSGGAF.....DI	HQSATSP.....LT	12277 : 560

Cuando el agente es un domino de anticuerpo, puede comprender 3 CDR, es decir, CDR1-CDR3 de VH o CDR1-CDR3 de VL.

5

El agente puede comprender un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que comprende una cadena pesada variable (VH) que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 1 y una cadena ligera variable (VL) que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 2.

SEQ_ID_1 VH de Jovi-1

EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRPGQGLEWIGFINPYN
DDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFF
DFWGQGTTLTVSS

5 SEQ_ID_2 VL de Jovi-1

DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRV
SNRFPQVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIKR

10 El agente puede comprender un scFv que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO: 3.
SEQ_ID_3 scFv de Jovi-1

EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRPGQGLEWIGFINPYN
DDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFF
DFWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSS
QRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPQVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
VEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIKR

Alternativamente, el agente puede comprender un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que comprende:

- 15 (i) la CDR3 de cadena pesada y/o la CDR3 de cadena ligera;
(ii) la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y/o la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera; o
(iii) la cadena pesada variable (VH) y/o la cadena ligera variable (VL);

20 de uno de los scFv mostrados como la SEQ ID NO: 13-22.

En las secuencias mostrada como la SEQ ID NO: 13-22, las porciones VH y VL de la secuencia se muestran en negrita y las secuencias de CDR1 y CDR2 para las cadenas pesada y ligera están subrayadas. Las secuencias de CDR3 para VH y VL se dan en la Tabla 1.

25 SEQ ID NO: 13_(CP_01_E09)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAHN SSSWSFDY
WGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSI
SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTIS
SLQPEDIATY
YCQQYDNLPLTFGGG TKVDIKRTAAA

30 SEQ ID NO: 14 (CP_01_D12)

EVQLLES GGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGDTY GFLDN
WGQGT MVT VSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQS
ISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFA
TYCQQFNAYPLTFGGG TKVEIKRTAAA

SEQ ID NO: 15 (CP_01_D10)

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSSKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGGSFGAFDIW
QGQTLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ
SYLNLN WYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATY
YCQQYNSYPLTFGGGTKLEIKRTAAA

5 SEQ ID NO: 16 (CP_01_C08)

EVQLLES GGGA VQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASGYSSSWYLDY
WGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQASQD
ISNYLNLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTIS SLQPEDIAT
YYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIKRTAAA

10 SEQ ID NO: 17 (CP_01_C11)

QVQLVESGA EVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGRINP
NSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSR LRSDDTAVYYCASGGAGWNWG
QGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFM LTQPHSVSESPGKTATISCTRSSGSIAS
NYVQWYQQRP GSAPTTVIYEDNQRPF GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEA
DYYCQSHDSSNVVFGGGTQLTVLGQPAA

SEQ ID NO: 18 (CP_01_F03)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGY?ASSWSQG
LWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVRDRVTITCQASQ
DISNYLNLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTIS SLQPEDIA
TYYCQQYDNLPPTFGGGTKVEIKRTAAA

15 SEQ ID NO: 19 (CP_01_E07)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGGSGGAFDI
WGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIVMTQTPHSLSVTPGQPASISCKSSQS
LLYSDGKTYLYWYLQKPGQPPQLLIYEVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE
AEDVGVYYCMQSIQLYTFGQGTKVDIKRTAAA

20 SEQ ID NO: 20 (CP_01_D03)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAPGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNKQYGMDVWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIVMTQSPATLSLAPGERATLSCRASQSVG
SNLAWYQQKPGQAPSLLIYDASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDI~~AVYY~~
CQQYHRWPLTFGGGTKVEIKRTAAA

SEQ ID NO: 21 (CP_01_F06)

EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDDGAMRYWGQ
GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLY
SSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQA
EDVAVYYCQQYYDSPYTFGQGTKVDIKRTAAA

5

SEQ ID NO: 22 (CP_01_F02)

QVQLVESGGGVVQPGRPLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGYSYADYWG
QGTMTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIR
NDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATY
YCLQHNSYPLTFGGGTKVDIKRTAAA

10

ESPECÍFICO de TRBC2

Usando presentación en fagos, se han identificado varios dominios de unión a anticuerpos que son altamente selectivos para unirse a TRBC2 sobre TRBC1, como se describe en el Ejemplo 12.

15

El agente puede comprender un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo que tiene una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que comprende una o más de las regiones determinantes de complementariedad (CDR3) mostradas en la Tabla 2.

Tabla 2

ID del clon	Número de VH dp	Número de VL dp	grupo de CDR3 CDR3 de Pesada	grupo de CDR3 CDR3 de Ligera	Unión a TRBC1 Unión a TRBC2
CP_03_E05	Vh3_DP-47 (3-23)	Vlambda6_6a	38:TRSSGAF.....DI	11:HSYDSNNH.....SV	217270 1617
CP_03_D05	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL23 (3r)	33:PRGRGSFA.....DI	27:QAWDTNIG.....G	212721 762
CP_03_H06	Vh3_DP-35 (3-11)	Vlambda6_6a	20:ARVGGM.....DV	19:QSFADNLH.....V	167971 391
CP_03_C12	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vk2_DPK12 (A2)	27:DTGPI.....DY	5:MQGIQLP.....PT	167371 789
CP_03_G02	Vh1_DP-7 (1-46)	Vk1_DPK9 (O12,O2)	10:GVWNSGSLGF.....D	30:QSYSTP.....LT	151586 787
CP_03_D04	Vh3_DP-46 (3-30.3)	Vlambda6_6a	28:GGFTVPGGAF.....DI	13:QSYDASN.....VI	143051 1210
CP_03_F10	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda2_2c	42:FGERYAF.....DI	9:SAYTGSN.....VY	139767 1683
CP_03_G09	Vh6_DP-74 (6-1)	Vlambda3_3j	34:DQWLANYYYGM.....W	34:QVWDSNS.....W	138659 979
CP_03_F09	Vh1_DP-7 (1-46)	Vlambda6_6a	8:NRGGSYKSVGM.....C	36:QSYDEVS.....VY	131852 889
CP_03_D09	Vh1_DP-15 (1-08)	Vlambda6_6a	11:VSSYYGM.....DV	28:QSYNSNH.....W	128690 544
CP_03_F02	Vh1_DP-15 (1-08)	Vlambda6_6a	3:APASSAH.....DH	14:QSYDSH.....VY	127081 1507
CP_02_E03	Vh3_DP-46 (3-30.3)	Vk1_DPK9 (O12,O2)	16:QGRYYGM.....DV	12:QQRSTP.....LT	122650 1979
CP_03_H07	Vh3_DP-31 (3-09)	Vlambda2_DPL11 (2a2)	14:SSVAAGAF.....DI	22:SSYTSSST.....WV	120948 1233
CP_03_C02	Vh5_DP-73 (5-51)	Vlambda2_DPL10 (2b2)	13:LSGRGLGF.....DY	10:SSYAGSSNL.....W	100238 1904
CP_03_E09	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda2_DPL11 (2a2)	5:DHYF.....DY	21:NSYTRSSST.....LV	99580 1011
CP_03_D08	Vh3_DP-46 (3-30.3)	Vlambda6_6a	19:SGRRVTAL.....DY	8:QSYDDTN.....VY	92074 453
CP_03_E11	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_3h	37:MGRYSSSW.....NI	3:QAWDTNIG.....G	91813 940
CP_03_B05	Vh5_DP-73 (5-51)	Vlambda2_DPL10 (2b2)	12:HSRFGPAF.....DI	23:SSYAGSSN.....VY	88004 815
CP_03_H02	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL23 (3r)	25:DREAF.....DI	3:QAWDTNIG.....G	87576 1829
CP_03_D02	Vh5_DP-73 (5-51)	Vlambda2_DPL10 (2b2)	7:LRGRYSYGSDAF.....D	17:SSYAGSSST.....FV	84907 1096
CP_03_E01	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL16 (3l)	36:LLNAVITYAF.....DI	4:NSRDSGGF.....PV	81606 498
CP_03_C11	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda2_DPL11 (2a2)	2:IGVIGGF.....DY	18:SSYTSSS.....IL	78572 1079
CP_03_B12	Vh3_DP-47 (3-23)	Vlambda6_6a	9:IEYSSSPYF.....DY	16:QSYDSNNR.....VL	70734 1120
CP_03_E03	Vh1_DP-7 (1-46)	Vlambda3_DPL16 (3l)	18:DLPITVTITGAF.....DI	7:SSRDSGNH.....LV	69661 356
CP_03_F01	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL23 (3r)	40:DSGYS.....DY	3:QAWDTNIG.....G	66921 1633
CP_03_C01	Vh6_DP-74 (6-1)	Vlambda3_3j	31:ASYPYYYYYGM.....D	29:QVWDSSTAN.....V	58194 825
CP_03_G07	Vh6_DP-74 (6-1)	Vlambda6_6a	41:ALGHF.....DF	32:QSYDSSNH.....V	57147 1278
CP_03_E02	Vh5_DP-73 (5-51)	Vlambda2_DPL11 (2a2)	35:FTGSAL.....YM	26:SSYAGSSN.....LV	52212 362
CP_03_C07	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL23 (3r)	17:DASGY.....DY	3:QAWDTNIG.....G	43547 1074
CP_03_H04	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda1_DPL5 (1b)	1:DLGTYTSGSD.....DY	2:GTWDSLSAG.....Q	35180 1103
CP_03_E06	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL16 (3l)	39:VGELGAF.....DI	35:SSLDSDNNH.....PI	34777 917
CP_03_H03	Vh1_DP-5 (1-24)	Vlambda1_DPL2 (1c)	15:GL.....GV	37:AAWDDSLNG.....Y	33358 1405
CP_03_G11	Vh5_DP-73 (5-51)	Vlambda2_DPL12 (2e)	23:HSVGGLAF.....DI	31:SSYAGSSST.....VY	30854 836
CP_03_G01	Vh6_DP-74 (6-1)	Vk1_I9	4:GGSIAAALAF.....DI	20:HQDYVYP.....PT	30762 1039
CP_03_H01	Vh1_DP-15 (1-08)	Vlambda3_DPL16 (3l)	30:VEYSRNGM.....DV	6:NSRDSGNH.....LV	29826 1203
CP_03_F11	Vh1_DP-15 (1-08)	Vlambda6_6a	22:GRYN.....LI	15:QSYDSN.....WV	24172 1152
CP_03_C06	Vh1_DP-14 (1-18)	Vlambda6_6a	32:LDYYYGM.....DV	33:QSYDSN.....QV	23031 937
CP_03_D03	Vh1_DP-15 (1-08)	Vlambda6_6a	26:GGLSSAF.....DI	24:QSYDSN.....VY	22905 1283
CP_03_G05	Vh5_DP-73 (5-51)	Vlambda2_DPL12 (2e)	6:YGGGL.....DV	25:SSYAGSYT.....LV	22037 813
CP_03_G12	Vh3_DP-47 (3-23)	Vlambda2_DPL11 (2a2)	21:PDHLTVF.....DY	1:SSYTPSS.....VL	20349 942
CP_03_C10	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL23 (3r)	24:VGYGM.....DV	3:QAWDTNIG.....G	18438 896
CP_03_F04	Vh1_DP-8,75 (1-02)	Vlambda3_DPL23 (3r)	29:YEGYAGF.....DY	3:QAWDTNIG.....G	13541 1047

El agente puede comprender un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que comprende:

- 5 (i) la CDR3 de cadena pesada y/o la CDR3 de cadena ligera;
- (ii) la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y/o la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera; o
- (iii) la cadena pesada variable (VH) y/o la cadena ligera variable (VL);

de uno de los scFv mostrados como la SEQ ID NO: 23-32.

10 En las secuencias mostrada como la SEQ ID NO: 23-32, las porciones VH y VL de la secuencia se muestran en negrita y las secuencias de CDR1 y CDR2 para las cadenas pesada y ligera están subrayadas. Las secuencias de CDR3 para VH y VL se dan en la Tabla 2.

15 SEQ ID NO: 23 (CP_03_E05)

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFSISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTRSSGAFDIWG
QGTlVTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIAS
KYVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNQRP**SGVPDRFSGSIDTSSNSASLTISGLRTEDEA**
DYYCHSYDSNNHVSFGGGKTkTVLgQPAA

SEQ ID NO: 24 (CP_03_D05)

QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINP
NSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCASPRGRGSAFDI
WGQGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGASSYELTQPPSVSVSPGQTATISCSGDQLG
GKYGHWYQKKPGQSPVLVLYQDRKRPAGIPERFSGSSSGNTITLTISGTQAVDEA
DYYCQAWDTNLGGVFGGGTKVTVLGQPAA

5

SEQ ID NO: 25 (CP_03_H06)

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISS
GSTIYYADSVEGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRTEDTAVYYCARARVGGMDVWGQ
GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASN
YVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNQRPSPGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEAD
YYCQSFADNLHVVFGGGTKLTVLGQPAA

10

SEQ ID NO: 26 (CP_03_C12)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINP
NSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDTGPIDYWGQ
GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHS
DGKTYLYWYLQKPGQPPQLLVYEVSNRFSGVPDKFSGSGSGTDFTLKISRVEAED
VGVIYCMQGIQLPPTFGGGTKVDIKRTAAA

15

SEQ ID NO: 27 (CP_03_G02)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGIINPSG
GSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSIYMESSLRSEDTAVYYCARGVWNSGSYLGFD
YWGGGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQ
DISNYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDF
ATYYCQQSYSTPLTFGGGTKLEIKRTAAA

SEQ ID NO: 28 (CP_03_D04)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGFTVPGGAFD
IWGQGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQPHSVSDSPGKTVTISCTRSSG
RIGSNFVQWYQQRPGSSPTTVIYEDDQRPSPGVPARFSGSIDSSSNSASLTISGLTTA
DEAGYYCQSYDASNVIFGGGTKLTVLGQPAA

20

SEQ ID NO: 29 (CP_03_F10)

**EVQLVESGAIEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGRINP
NSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARFGERYAFDIW
GQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGASQSELTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSTDV
GAFHFVSWYQHPTGKAPKLLISEVRKRASGVPDRFSGSRSGNTASLTVSGLQSED
EADYFCSAYTGSNYVFGSGTKLTVLGQPAA**

SEQ ID NO: 30 (CP_03_G09)

**QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTY
YRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDQWLANY
YYGMDVWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGASSYELTQPLSVSVALGQTARITC
GGNNIGSKNVHWYQQKPGQAPVLVIYRDNNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISKAQ
AGDEADYYCQVWDSNSWVFGGGTKLTVLGQPAA**

SEQ ID NO: 31 (CP_03_F09)

**QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFASYMHVWRQAPGQGLEWMGIINP
SGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSRRLSDDTAVYYCASNRGGSYKSV
GMDVWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFMILTQPPSVSESPGKTVTISCT
RSSGNFASKYVQWYQQRPQSSPTTVIYENYQRPSPGVPDRFSGSIDSSSNSATLTIS
GLKTEDEADYYCQSYDEVSVVFGGGTQLTVLGQPAA**

SEQ ID NO: 32 (CP_03_D09)

**EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCEASGYTFTSYAISWVRQAPGQGLEWMGWMNP
NSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARVSSYYGMDV**

**WGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFMILTQPLSVSESPGKTVTISCTRSSGSI
ASNYVQWYQQRPQSAPTTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTED
EADYYCQSYNSSNHVWVFGGGTKVTVLGQPAA**

15 Las variantes de las secuencias de aminoácidos anteriores también se pueden usar en la presente divulgación siempre que el anticuerpo resultante se una a TRBC1 o TRBC2 y no reaccione de forma cruzada significativamente. Generalmente, tales variantes tienen un alto grado de identidad de secuencia con una de las secuencias especificadas anteriormente.

20 Los métodos de alineación de secuencias para la comparación son bien conocidos en la técnica.

La Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) de NCBI está disponible en varias fuentes, incluido el Centro Nacional de Información sobre Biotecnología (NCBI, por sus siglas en inglés, Bethesda, Md.) y en Internet, para su uso en conexión con los programas de análisis de secuencias blastp, blastn, blastx, blastn y tblastx. Una descripción de cómo determinar la identidad de secuencia usando este programa está disponible en el sitio web de NCBI en Internet. Las variantes del dominio VL o VH o scFv generalmente tienen al menos aproximadamente un 75 %, por ejemplo al menos aproximadamente un 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con las secuencias proporcionadas como las SEQ ID NO: 1-3, 13-32.

30 Generalmente, las variantes pueden contener una o más sustituciones de aminoácidos conservativas en comparación con la secuencia de aminoácidos o del ácido nucleico original. Las sustituciones conservativas son aquellas

sustituciones que no afectan o disminuyen sustancialmente la afinidad de un anticuerpo para unirse a TRBC1 o TRBC2. Por ejemplo, un anticuerpo humano que se une específicamente a TRBC1 o TRBC2 puede incluir hasta 1, hasta 2, hasta 5, hasta 10 o hasta 15 sustituciones conservativas en una o ambas VH o VL en comparación con cualquiera de las secuencias proporcionadas como las SEQ ID NO: 1-3 o 13-32 y conservan la unión específica a TRBC1 o TRBC2.

Los aminoácidos funcionalmente similares que pueden intercambiarse por medio de una sustitución conservativa son bien conocidos por un experto en la materia. Los siguientes seis grupos son ejemplos de aminoácidos que se consideran sustituciones conservativas entre sí: 1) Alanina (A), Serina (S), Treonina (T); 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E); 3) Asparagina (N), Glutamina (Q); 4) Arginina (R), Lisina (K); 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); y 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W).

PREPARACIÓN DE ANTICUERPOS

La preparación de anticuerpos se puede realizar utilizando técnicas de laboratorio convencionales. Los anticuerpos pueden obtenerse a partir de suero animal o, en el caso de anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos, producirse en cultivo celular. La tecnología de ADN recombinante puede usarse para producir los anticuerpos de acuerdo con el procedimiento establecido, en cultivo de células bacterianas o de mamífero.

Los métodos para la producción de anticuerpos monoclonales son bien conocidos en la técnica. En resumen, los anticuerpos monoclonales se producen generalmente fusionando las células de mieloma con las células de bazo de un ratón o conejo que ha sido inmunizado con el antígeno deseado. En el presente documento, el antígeno deseado es el péptido TRBC1 o TRBC2, o una cadena TCR β que comprende TRBC1 o TRBC2.

Alternativamente, los anticuerpos y las moléculas relacionadas, particularmente scFv, se pueden producir fuera del sistema inmunitario combinando bibliotecas de cadenas VH y VL de manera recombinante. Dichas bibliotecas pueden construirse y explorarse usando tecnología de presentación en fagos como se describe en el Ejemplo 12.

IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS SELECTIVOS DE TRBC1/TRBC2

Los anticuerpos que son selectivos para TRBC1 o TRBC2 pueden identificarse usando métodos que son convencionales en la técnica. Los métodos para determinar la especificidad de unión de un anticuerpo incluyen, aunque sin limitación, ELISA, transferencia de Western, inmunohistoquímica, citometría de flujo, transferencia de energía de resonancia de Förster (FRET), bibliotecas de presentación en fagos, exploraciones de dos híbridos de levadura, coinmunoprecipitación, complementación de fluorescencia bimolecular y purificación por afinidad en tándem.

Para identificar un anticuerpo que es selectivo para TRBC1 o TRBC2, se evalúa la unión del anticuerpo a cada uno de TRBC1 y TRBC2. Generalmente, esto se evalúa determinando la unión del anticuerpo a cada TRBC por separado. Un anticuerpo que es selectivo se une a TRBC1 o TRBC2 sin una unión significativa al otro TRBC.

MIMÉTICOS DE ANTICUERPOS

El agente puede ser alternativamente una molécula que no procede o no se basa en una inmunoglobulina. Se han desarrollado varias proteínas de repetición diseñadas (DRP, de sus siglas en inglés) "miméticas de anticuerpos" para explotar las capacidades de unión de los polipéptidos que no son anticuerpos.

Las proteínas de repetición, tales como las proteínas de repetición de anquirina o ricas en leucina, son moléculas de unión ubicuas que se producen, a diferencia de los anticuerpos, de forma intra y extracelular. Su arquitectura modular singular presenta unidades estructurales repetitivas (repeticiones), que se apilan juntas para formar dominios de repetición alargados que presentan superficies de unión a la diana variables y modulares. Basándose en esta modularidad, se pueden generar bibliotecas de polipéptidos combinatorias con especificidades de unión altamente diversificadas. Las DARPin (por sus siglas en inglés *Designed Ankyrin Repeat Proteins*, proteínas de repetición diseñadas de anquirina) son un ejemplo de un mimético de anticuerpo basado en esta tecnología.

Para las Anticalins, la especificidad de unión se obtiene de las lipocalinas, una familia de proteínas que realizan una serie de funciones *in vivo* asociadas con el transporte fisiológico y el almacenamiento de compuestos químicamente sensibles o insolubles. Las lipocalinas tienen una estructura fuerte intrínseca que comprende un barril β altamente conservado que sustenta cuatro bucles en un extremo de la proteína. Estos bucles para la entrada a un compartimento de unión y las diferencias conformacionales en esta parte de la molécula explican la variación en la especificidad de unión entre distintas lipocalinas.

Los Avímeros se desarrollan a partir de una familia grande de dominios de receptores extracelulares humanos mediante cambio de sitio de exones *in vitro* y la presentación en fagos, generando proteínas multidominio con propiedades de unión e inhibidoras.

Versacuerpos son proteínas pequeñas de 3-5 kDa con > 15 % de cisteínas, que forman un armazón de alta densidad

de disulfuros, reemplazando el núcleo hidrófobo presente en la mayoría de las proteínas. El reemplazo de un gran número de aminoácidos hidrófobos, que comprenden el núcleo hidrófobo, por un pequeño número de disulfuros, da como resultado una proteína que es más pequeña, más hidrófila, más resistente a las proteasas y al calor, y que tiene una densidad más baja de epítomos de linfocitos T. Todas estas cuatro propiedades dan como resultado una proteína que tiene una inmunogenicidad considerablemente reducida. Además, pueden fabricarse en *E. coli* y son altamente solubles y estables.

CONJUGADOS

El anticuerpo o mimético puede ser un conjugado del anticuerpo o mimético y otro agente o anticuerpo, por ejemplo, el conjugado puede ser una entidad detectable o una entidad quimioterapéutica.

La entidad detectable puede ser un resto fluorescente, por ejemplo un péptido fluorescente. Un "péptido fluorescente" se refiere a un polipéptido que, después de la excitación, emite luz a una longitud de onda detectable. Ejemplos de proteínas fluorescentes incluyen, aunque sin limitación, isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), alofocianina (APC), proteína fluorescente verde (GFP), GFP potenciado, proteína fluorescente roja (RFP), proteína fluorescente azul (BFP) y mCherry.

Se puede usar un agente selectivo de TRBC1 o TRBC2 conjugado con una entidad detectable para determinar la TRBC de un linfocito T maligno.

Una entidad quimioterapéutica como se usa en el presente documento se refiere a una entidad que es destructiva para una célula, es decir, la entidad reduce la viabilidad de la célula. La entidad quimioterapéutica puede ser un fármaco citotóxico. Un agente quimioterapéutico contemplado incluye, sin limitación, agentes alquilantes, nitrosoureas, etileniminas/metilmelamina, alquil sulfonatos, antimetabolitos, análogos de pirimidina, epipodofilotoxinas, enzimas tales como L-asparaginasa; modificadores de la respuesta biológica, tales como IFN α , IL-2, G-CSF y GM-CSF; complejos de coordinación de platino tales como cisplatino y carboplatino, antracenodionas, urea sustituida, tal como hidroxiiurea, derivados de metilhidrazina, incluyendo N-metilhidrazina (MIH) y procarbazona, supresores adrenocorticales tales como mitotano (o,p'-DDD) y aminoglutetimida; hormonas y antagonistas, incluyendo antagonistas de adrenocorticoesteroides, tal como la prednisona y equivalentes, dexametasona y aminoglutetimida; progestina tal como caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona y a acetato de megestrol; estrógenos tales como dietilestilbestrol y equivalentes de etinilestradiol; un antiestrógeno tal como tamoxifeno; andrógenos que incluyen propionato de testosterona y fluoximesterona/equivalentes; antiandrógenos tal como flutamida, análogos de la hormona liberadora de gonadotropina y leuprolida; y antiandrógenos no esteroideos tales como flutamida.

Un agente selectivo de TRBC conjugado con una entidad quimioterapéutica permite el suministro dirigido de la entidad quimioterapéutica a las células que expresan TRBC1 o TRBC2.

ACOPLADORES A LINFOCITOS T BIESPECÍFICOS

Se ha desarrollado una amplia variedad de moléculas que se basan en el concepto básico de tener dos dominios de unión similares a anticuerpos.

Las moléculas de acoplamiento a linfocitos T biespecíficas son una clase de moléculas de tipo anticuerpo biespecíficas que se han desarrollado, principalmente para su uso como fármacos contra el cáncer. Dirigen el sistema inmunitario del hospedador, más específicamente la actividad citotóxica de los linfocitos T, contra una célula diana, tal como una célula cancerosa. En estas moléculas, un dominio de unión se une a un linfocito T a través del receptor CD3, y el otro a células diana tal como una célula tumoral (a través de una molécula específica del tumor). Debido a que la molécula biespecífica se une tanto a la célula diana como al linfocito T, acerca la célula diana al linfocito T, de modo que el linfocito T puede ejercer su efecto, por ejemplo, un efecto citotóxico en una célula cancerosa. La formación del complejo de linfocito T:Ac biespecífico:célula cancerosa induce la señalización en los linfocitos T que conduce, por ejemplo, a la liberación de mediadores citotóxicos. De manera ideal, el agente solo induce la señalización deseada en presencia de la célula diana, lo que lleva a la destrucción selectiva.

Las moléculas de acoplamiento a linfocitos T biespecíficas se han desarrollado en varios formatos diferentes, pero una de las más comunes es una fusión que consiste en dos fragmentos variables de cadena sencilla (scFv) de diferentes anticuerpos. A veces se les conoce como BiTE (por sus siglas en inglés, *Bi-specific T-cell Engagers*, Acopladores de linfocitos T biespecíficos).

El agente usado en el método de la presente divulgación puede ser una molécula biespecífica que reconoce selectivamente TRBC1 o TRBC2 y es capaz de activar un linfocito T. Por ejemplo, el agente puede ser un BiTE. El agente utilizado en el método puede comprender:

- (i) un primer dominio que se une a TRBC1 o TRBC2; y
- (ii) un segundo dominio capaz de activar un linfocito T.

La molécula biespecífica puede comprender un péptido señal para ayudar en su producción. El péptido señal puede hacer que la molécula biespecífica sea secretada por una célula hospedadora, de modo que la molécula biespecífica se pueda recoger del sobrenadante de la célula hospedadora.

5 El péptido señal puede estar en el extremo amino de la molécula. La molécula biespecífica puede tener la fórmula general: Péptido señal - primer dominio - segundo dominio.

10 LA molécula biespecífica puede comprender una secuencia espaciadora para conectar el primer dominio con el segundo dominio y separar espacialmente los dos dominios.

La secuencia espaciadora puede comprender, por ejemplo, una bisagra de IgG1 o un tallo de CD8. El enlazador puede comprender, como alternativa, una secuencia enlazadora alternativa que tiene longitud y/o propiedades espaciadoras de dominios similares a las de una bisagra de IgG1 o un tallo de CD8.

15 La molécula biespecífica puede comprender el, JOVI-1 o un fragmento funcional del mismo, como se define anteriormente.

RECEPTOR QUIMÉRICO DE ANTÍGENO (CAR)

20 Los receptores quiméricos de antígenos (CAR), también conocidos como receptores quiméricos de linfocitos T, receptores de linfocitos T artificiales e inmunorreceptores quiméricos, son receptores genomanipulados, que injertan una especificidad arbitraria en una célula efectora inmunitaria. En un CAR clásico, la especificidad de un anticuerpo monoclonal se injerta en un linfocito T. Los ácidos nucleicos que codifican CAR pueden transferirse a linfocitos T usando, por ejemplo, vectores retrovirales. De esta forma, puede generarse una gran cantidad de linfocitos T
25 específicos de cáncer para transferencia celular adoptiva. Los estudios clínicos en fase I de este enfoque muestran eficacia.

30 El dominio de unión diana-antígeno de un CAR se fusiona habitualmente a través de un espaciador y dominio transmembrana a un endodominio, que comprende o se asocia con un dominio de señalización de linfocitos T intracelular. Cuando el CAR une diana-antígeno, esto da como resultado la transmisión de una señal de activación al linfocito T en el que se expresa.

35 El agente usado en el método de la presente divulgación puede ser un CAR que reconoce selectivamente TRBC1 o TRBC2. El agente puede ser un linfocito T que expresa un CAR que reconoce selectivamente TRBC1 o TRBC2.

El CAR también puede comprender un dominio transmembrana que abarca la membrana. Puede comprender una hélice alfa hidrófoba. El dominio transmembrana puede proceder de CD28, que da una buena estabilidad de receptor.

40 El endodominio es la porción de la CAR implicada en la transmisión de señal. El endodominio comprende o se asocia con un dominio de señalización intracelular de linfocitos T. Después del reconocimiento del antígeno, los receptores se agrupan y se transmite una señal a la célula. El componente de señalización de linfocitos T más habitualmente usado es el de CD3-zeta que contiene 3 ITAM. Este transmite una señal de activación al linfocito T después de que se una al antígeno. CD3-zeta puede no proporcionar una señal de activación completamente competente y puede
45 necesitarse una señalización coestimuladora adicional. Por ejemplo, puede usarse CD28 y OX40 quiméricos con CD3-Zeta para transmitir una señal proliferativa/de supervivencia, o pueden usarse los tres juntos.

El endodominio del CAR puede comprender el endodominio de CD28 y el endodominio de OX40 y CD3-Zeta.

50 El CAR puede comprender un péptido señal de modo que, cuando el CAR se exprese dentro de una célula, tal como un linfocito T, la proteína nascente se dirija al retículo endoplasmático y posteriormente a la superficie celular, donde se expresa.

55 El CAR puede comprender una secuencia espaciadora para conectar el dominio de unión a TRBC con el dominio transmembrana y separar espacialmente el dominio de unión a TRBC del endodominio. Un espaciador flexible permite que el dominio de unión a TRBC se oriente en diferentes direcciones para posibilitar la unión a TRBC.

La secuencia espaciadora puede comprender, por ejemplo, una región Fc de IgG1, una bisagra de IgG1 o un tallo de CD8, o una combinación de los mismos. El enlazador puede comprender, como alternativa, una secuencia enlazadora alternativa que tiene longitud y/o propiedades espaciadoras de dominios similares a una región Fc de IgG1, una bisagra de IgG1 o un tallo de CD8.
60

Se encontró que los CAR que comprenden un espaciador basado en una bisagra de IgG1 o un tallo de CD8 mostraron el mejor rendimiento contra las células Jurkat (Figura 15). El espaciador puede comprender, por lo tanto, una bisagra de IgG1 o un tallo de CD8 o un espaciador que tiene longitud y/o propiedades espaciadoras de dominios similares a las de una bisagra de IgG1 o un tallo de CD8.
65

Un espaciador de IgG1 humana puede alterarse para eliminar los motivos de unión a Fc.

El CAR puede comprender el anticuerpo JOVI-1 o un fragmento funcional del mismo, como se define anteriormente.

5 El CAR puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 33, 34 y 35.

>SEQ_ID_33 CAR de JOVI-1 con espaciador de tallo de CD8

10 METDTLLLWVLLWVPGSTGEVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHW
VKQRPGQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAV
YYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQS
PLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFP
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRSDPTTTPA
PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIFWVLVWVGGVLACYSL

LVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRDQR
LPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL
NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG
ERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

>SEQ_ID_34 CAR de JOVI-1 con espaciador H-CH2-CH3pva

METDTLLLWVLLWVPGSTGEVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHW
VKQRPGQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAV
YYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQS
PLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFP
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRSDPAEPK
SPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLS
PGKKDPKFWVLVWVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGP
TRKHYPYAPPRDFAAYRSRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIR
VKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP
PR

>SEQ_ID_35 CAR de JOVI-1 con espaciador de bisagra de IgG1

METDTLLLWVLLWIPGSTGEVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCASGYTFTGYVMHW
 VKQRPGQGLEWIGFINPYNDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAV
 YYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQS
 PLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPGV
 PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRSDPAEPK
 SPDKTHTCPPCPKDPKFWLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMN
 MTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQAD
 AHSTLAKIRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG
 KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD
 ALHMQALPPR

En las secuencias de CAR proporcionadas anteriormente, la una o más de las 6 CDR, cada una de manera independiente, puede o no comprender una o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones) en comparación con las secuencias proporcionadas como las SEQ ID NO: 7 a 12, siempre que el CAR resultante conserve la capacidad de unirse selectivamente a TRBC1.

Las variantes de las secuencias de aminoácidos anteriores también se pueden usar en la presente divulgación siempre que el CAR resultante se una a TRBC1 o TRBC2 y no reaccione de forma cruzada significativamente. Generalmente, tales variantes tienen un alto grado de identidad de secuencia con una de las secuencias proporcionadas como las SEQ ID NO: 33, 34 o 35.

Las variantes del CAR generalmente tienen al menos aproximadamente un 75 %, por ejemplo al menos aproximadamente un 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una de las secuencias proporcionadas como las SEQ ID NO: 33, 34 o 35.

ÁCIDO NUCLEICO

La presente divulgación proporciona además un ácido nucleico que codifica un agente tal como un BITE o CAR del primer aspecto de la divulgación.

La secuencia del ácido nucleico puede codificar un CAR que comprende una de las secuencias de aminoácidos mostradas como la SEQ ID NO: 33, 34 y 35.

Como se usa en el presente documento, los términos "polinucleótido", "nucleótido" y "ácido nucleico" pretenden ser sinónimos entre sí.

Un experto en la materia entenderá que numerosos polinucleótidos y ácidos nucleicos diferentes pueden codificar el mismo polipéptido como resultado de la degeneración del código genético. Además, debe entenderse que los expertos pueden, utilizando técnicas de rutina, realizar sustituciones de nucleótidos que no afecten la secuencia de polipéptidos codificada por los polinucleótidos descritos en este caso para reflejar el uso de codones de cualquier organismo hospedador particular en el que los polipéptidos deben expresarse.

Los ácidos nucleicos según la invención pueden comprender ADN o ARN. Pueden ser monocatenarios o bicatenarios. También pueden ser polinucleótidos que incluyen dentro de ellos nucleótidos sintéticos o modificados. En la técnica se conocen varios tipos diferentes de modificación de oligonucleótidos. Estos incluyen cadenas principales de metilfosfonato y fosforotioato, adición de cadenas de acridina o polilisina en los extremos 3' y/o 5' de la molécula. Para los fines del uso como se describe en el presente documento, debe entenderse que los polinucleótidos pueden modificarse mediante cualquier método disponible en la técnica. Dichas modificaciones pueden llevarse a cabo para potenciar la actividad *in vivo* o la vida útil de los polinucleótidos de interés.

Los términos "variante", "homólogo" o "derivado" en relación con una secuencia de nucleótidos incluye cualquier sustitución de, variación de, modificación de, reemplazo de, supresión de o adición de un (o más) ácido nucleico a partir de o a la secuencia.

VECTOR

La presente divulgación también proporciona un vector o kit de vectores, que comprende una o más secuencias de

los ácidos nucleicos de la divulgación. Tal vector puede usarse para introducir la secuencia o secuencias de los ácidos nucleicos en una célula hospedadora de modo que exprese un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la divulgación.

- 5 El vector puede, por ejemplo, ser un plásmido o un vector viral, tal como un vector retroviral o un vector lentiviral, o un vector basado en transposón o ARNm sintético.

El vector puede ser capaz de transfectar o transducir un linfocito T o un linfocito citolítico natural.

10 CÉLULA

La presente divulgación también se refiere a una célula, tal como una célula inmunitaria, que comprende un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la divulgación.

- 15 La célula puede comprender un ácido nucleico o un vector de la presente divulgación.

La célula puede ser un linfocito T o una célula citolítica natural (NK).

- 20 Las células T pueden ser células T o linfocitos T que son un tipo de linfocitos que desempeñan un papel central en la inmunidad mediada por células. Se pueden distinguir de otros linfocitos, tales como los linfocitos B y las células citolíticas naturales (células NK), por la presencia de un receptor de linfocitos T (TCR) en la superficie celular. Hay varios tipos de linfocitos T, tal como se resume a continuación.

- 25 Los linfocitos T auxiliares (linfocitos TH) ayudan a otros glóbulos blancos en los procesos inmunitarios, incluyendo la maduración de linfocitos B en células plasmáticas y linfocitos B de memoria, y la activación de linfocitos T citotóxicos y macrófagos. Los linfocitos TH expresan CD4 en su superficie. Los linfocitos TH se activan cuando las moléculas MHC de clase II les presentan antígenos peptídicos en la superficie de las células presentadoras de antígenos (APC, por sus siglas en inglés). Estas células pueden diferenciarse en uno de varios subtipos, incluyendo TH1, TH2, TH3, TH17, Th9 o TFH, que secretan diferentes citocinas para facilitar diferentes tipos de respuestas inmunitarias.

- 30 Los linfocitos T citolíticos (linfocitos TC o CTL) destruyen las células infectadas por virus y las células tumorales, y también están implicados en el rechazo de trasplantes. Los CTL expresan el CD8 en su superficie. Estas células reconocen sus dianas al unirse al antígeno asociado con MHC de clase I, que está presente en la superficie de todas las células nucleadas. A través de IL-10, adenosina y otras moléculas secretadas por los linfocitos T reguladores, las células CD8+ pueden inactivarse a un estado anérgico, que previene enfermedades autoinmunitarias tales como la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental.

- 40 Los linfocitos T de memoria son un subconjunto de linfocitos T específicos de antígeno que persisten a largo plazo después de que se resuelve una infección. Se expanden rápidamente a un gran número de linfocitos T efectores tras la reexposición a su antígeno afín, proporcionando así el sistema inmunitario con "memoria" contra infecciones pasadas. Los linfocitos T de memoria comprenden tres subtipos: linfocitos T de memoria central (linfocitos TCM) y dos tipos de linfocitos T de memoria efectores (linfocitos TEM y linfocitos TEMRA). Los linfocitos de memoria pueden ser CD4+ o CD8+. Los linfocitos T de memoria generalmente expresan la proteína de la superficie celular CD45RO.

- 45 Los linfocitos T reguladores (linfocitos Treg), anteriormente conocido como linfocitos T supresores, son cruciales para el mantenimiento de la tolerancia inmunitaria. Su función principal es detener la inmunidad mediada por linfocitos T hacia el final de una reacción inmunitaria y suprimir linfocitos T autorreactivos que escaparon al proceso de selección negativa en el timo.

- 50 Se han descrito dos clases principales de linfocitos Treg CD4+: los linfocitos Treg de origen natural y los linfocitos Treg adaptativos.

- 55 Los linfocitos Treg de origen natural (también conocidos como linfocitos Treg CD4+CD25+FoxP3+) surgen en el timo y se han relacionado con interacciones entre los linfocitos T en desarrollo con células dendríticas tanto mieloides (CD11c+) como plasmacitoides (CD123+) que se han activado con TSLP. Los linfocitos Treg de origen natural se pueden distinguir de otros linfocitos T por la presencia de una molécula intracelular llamada FoxP3. Las mutaciones del gen FOXP3 pueden prevenir el desarrollo de linfocitos T reguladores, causando la enfermedad autoinmunitaria letal IPEX.

- 60 Los linfocitos Treg adaptativos (también conocidos como linfocitos Tr1 o linfocitos Th3) pueden originarse durante una respuesta inmunitaria normal.

- 65 EL linfocito puede ser un linfocito citolítico natural (o linfocito NK). Los linfocitos NK forman parte del sistema inmunitario innato. Los linfocitos NK proporcionan respuestas rápidas a las señales innatas de las células infectadas por virus de manera independiente del MHC. Los linfocitos NK (que pertenecen al grupo de las células linfoides innatas) se definen como linfocitos granulares grandes (LGL, por sus siglas en inglés) y constituyen el tercer tipo de células diferenciadas

del progenitor linfoide común que genera linfocitos B y T. Se sabe que los linfocitos NK se diferencian y maduran en la médula ósea, ganglios linfáticos, bazo, amígdalas y timo donde después entran en la circulación.

Las células con CAR de la invención pueden ser cualquiera de los tipos de células mencionados anteriormente.

Los linfocitos T o NK que expresan un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la invención pueden crearse *ex vivo* ya sea de la propia sangre periférica del paciente (1ª parte), o en el contexto de un trasplante de células madre hematopoyéticas de sangre periférica del donante (2ª parte), o de sangre periférica de un donante no relacionado (3ª parte).

Alternativamente, Los linfocitos T o NK que expresan un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la invención pueden proceder de la diferenciación *ex vivo* de progenitores inducibles a linfocitos T o NK. Alternativamente, se puede usar una línea de linfocitos T que conserva su función lítica y podría actuar como un agente terapéutico.

En todos estos aspectos los linfocitos con CAR se generan mediante la introducción de ADN o ARN que codifica los CAR por uno de los muchos medios, incluida la transducción con un vector viral, la transfección con ADN o ARN.

El linfocito con CAR de la invención puede ser un linfocito T o NK *ex vivo* de un sujeto. El linfocito T o NK puede ser de una muestra de células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Los linfocitos T o NK pueden activarse y/o expandirse antes de ser transducidos con ácido nucleico que codifica un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la invención, por ejemplo mediante tratamiento con un anticuerpo monoclonal anti-CD3.

Un linfocito T o NK de la invención puede producirse mediante:

- (i) aislamiento de una muestra que contiene linfocitos T o NK de un sujeto u otras fuentes enumeradas anteriormente; y
- (ii) transducción o transfección de los linfocitos T o NK con una o más secuencias de los ácidos nucleicos que codifican un CAR de la invención.

Los linfocitos T o NK pueden entonces purificarse, por ejemplo, seleccionarse basándose en la expresión del dominio de unión a antígeno del polipéptido de unión a antígeno.

La presente divulgación también proporciona un kit que comprende un linfocito T o NK que comprende un CAR de acuerdo con el primer aspecto de la invención.

COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que contiene una pluralidad de linfocitos que expresan un CAR del primer aspecto de la invención. La composición farmacéutica puede comprender adicionalmente un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender opcionalmente uno o más polipéptidos y/o compuestos farmacéuticamente activos adicionales. Dicha formulación puede, por ejemplo, estar en una forma adecuada para infusión intravenosa.

LINFOMA Y/O LEUCEMIA DE LINFOCITOS T

La presente invención se refiere a agentes y células para su uso en métodos para tratar un linfoma y/o leucemia de linfocitos T.

Un método para tratar un linfoma y/o leucemia de linfocitos T se relaciona con el uso terapéutico de un agente. En el presente documento, el agente se puede administrar a un sujeto que tenga una enfermedad existente de linfoma y/o leucemia de linfocitos T para disminuir, reducir o mejorar al menos un síntoma asociado con la enfermedad y/o para frenar, reducir o bloquear la progresión de la enfermedad.

El método de la presente divulgación puede usarse para el tratamiento de cualquier linfoma y/o leucemia asociado con la expansión clonal de una célula que expresa un receptor de linfocitos T (TCR) que comprende una región constante β . Como tal, el presente documento divulga un método para tratar una enfermedad que implica linfocitos T malignos que expresan un TCR que comprende una TRBC.

El método de la presente divulgación puede usarse para tratar un linfoma de linfocitos T en el que el linfocito T maligno expresa un TCR que comprende una TRBC. El término "linfoma" se usa, en el presente documento, de acuerdo con su significado convencional para referirse a un cáncer que generalmente se desarrolla en los ganglios linfáticos, pero que también puede afectar al bazo, médula ósea, sangre y otros órganos.

El linfoma generalmente se presenta como un tumor sólido de células linfoides. El síntoma principal asociado con el linfoma es la linfadenopatía, aunque los síntomas secundarios (B) pueden incluir fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso, pérdida de apetito, fatiga, dificultad respiratoria y picazón.

El método de la presente divulgación puede usarse para tratar una leucemia de linfocitos T en la que el linfocito T maligno expresa un TCR que comprende una TRBC. "Leucemia" se usa, en el presente documento, de acuerdo con su significado convencional para referirse a un cáncer de la sangre o de la médula ósea.

La siguiente es una lista ilustrativa, no exhaustiva de enfermedades que pueden tratarse mediante el método de la presente divulgación.

LINFOMA PERIFÉRICO DE LINFOCITOS T

Los linfomas periféricos de linfocitos T son linfomas relativamente poco frecuentes y representan menos del 10 % de todos los linfomas no Hodgkin (LNH). Sin embargo, están asociados con un curso clínico agresivo y las causas y los orígenes celulares precisos de la mayoría de los linfomas de linfocitos T aún no están bien definidos.

El linfoma generalmente se presenta primero como hinchazón en el cuello, axilas o ingle. Se puede producir una inflamación adicional donde se encuentran otros ganglios linfáticos, como en el bazo. En general, los ganglios linfáticos agrandados pueden invadir el espacio de los vasos sanguíneos, los nervios o el estómago, lo que provoca hinchazón de brazos y piernas, hormigueo y entumecimiento, o sensación de estar lleno, respectivamente. Los síntomas del linfoma también incluyen síntomas inespecíficos tales como fiebre, escalofríos, pérdida de peso inexplicable, sudoración nocturna, letargo y picazón.

La clasificación de la OMS utiliza características morfológicas e inmunofenotípicas junto con aspectos clínicos y, en algunos casos, genéticos para delinear una clasificación significativa desde el punto de vista pronóstico y terapéutico para los linfomas periféricos de linfocitos T (Swerdlow et al.; WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4ª ed.; Lion: IARC Press; 2008). La localización anatómica de los linfocitos T neoplásicos es paralela en parte a sus homólogos y funciones celulares normales propuestos y, como tal, los linfomas de linfocitos T están asociados con los ganglios linfáticos y la sangre periférica. Este enfoque permite una mejor comprensión de algunas de las manifestaciones de los linfomas de linfocitos T, incluida su distribución celular, algunos aspectos de la morfología e incluso los hallazgos clínicos asociados.

El más común de los linfomas de linfocitos T es el linfoma periférico de linfocitos T, no especificado (PTCL-NOS) que comprende el 25 % del total, seguido por el linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T (AITL) (18,5 %)

LINFOMA PERIFÉRICO DE LINFOCITOS T, NO ESPECIFICADO (PTCL-NOS)

PTCL-NOS comprende más del 25 % de todos los linfomas periféricos de linfocitos T y linfomas de linfocitos NK/T y es el subtipo más común. Está determinado por un diagnóstico de exclusión, que no corresponde a ninguna de las entidades específicas de linfomas de linfocitos T maduros enumeradas en la OMS 2008 actual. Como tal, es análogo al linfoma difuso de linfocitos B grandes, no especificado (DLBCL-NOS).

La mayoría de los pacientes son adultos con una mediana de edad de 60 años y una relación hombre/mujer de 2:1. La mayoría de los casos son de origen ganglionar, sin embargo, se producen presentaciones extraganglionares en aproximadamente el 13 % de los pacientes y con mayor frecuencia implican la piel y el tracto gastrointestinal.

El espectro citológico es muy amplio, desde polimorfo a monomorfo. Se han descrito tres variantes definidas morfológicamente, incluida la variante linfoepiteliode (Lennert), la variante de la zona T y la variante folicular. La variante linfoepiteliode de PTCL contiene abundantes histiocitos epitelioides de fondo y es comúnmente positiva para CD8. Esto se ha asociado con un mejor pronóstico. La variante folicular de PTCL-NOS está emergiendo como una entidad clinicopatológica potencialmente distinta.

La mayoría de PTCL-NOS tiene un fenotipo de linfocitos T maduros y la mayoría de los casos son CD4 positivos. El 75 % de los casos muestran pérdida variable de al menos un marcador de linfocitos pan-T (CD3, CD2, CD5 o CD7), siendo CD7 y CD5 regulados negativamente con mayor frecuencia. Se puede expresar CD30 y rara vez CD15, siendo CD15 una característica de pronóstico adverso. La expresión de CD56, aunque poco común, también tiene un impacto pronóstico negativo. Los factores pronósticos patológicos adversos adicionales incluyen una tasa de proliferación superior al 25 % basada en la expresión de KI-67 y la presencia de más del 70 % de células transformadas. El análisis inmunofenotípico de estos linfomas ha ofrecido poca información sobre su biología.

LINFOMA ANGIOINMUNOBLÁSTICO DE LINFOCITOS T (AITL)

El AITL es una enfermedad sistémica caracterizada por un infiltrado polimorfo que implica ganglios linfáticos, vénulas de endotelio alto prominentes (HEV) y expansión perivascular de mallas de células dendríticas foliculares (FDC). El AITL se considera un linfoma de linfocitos T *de novo* derivado de linfocitos T $\alpha\beta$ de tipo folicular auxiliar (TFH), que normalmente se encuentran en los centros germinales.

AITL es la segunda entidad más común entre el linfoma periférico de linfocitos T y los linfomas de linfocitos NK/T,

comprendiendo aproximadamente el 18,5 % de los casos. Se produce en adultos de mediana edad a adultos mayores, con una mediana de edad de 65 años y una incidencia aproximadamente igual en hombres y mujeres. Clínicamente, los pacientes generalmente tienen enfermedad en estadio avanzado, con linfadenopatía generalizada, hepatoesplenomegalia y síntomas constitucionales prominentes. Comúnmente se presenta erupción cutánea con prurito asociado. Con frecuencia existe hipergammaglobulinemia policlonal, asociada con fenómenos autoinmunitarios.

Se describen tres patrones morfológicos diferentes en AITL. La lesión temprana de AITL (Patrón I) generalmente muestra una arquitectura conservada con folículos hiperplásicos característicos. La proliferación neoplásica se localiza en la periferia de los folículos. En el Patrón II, la arquitectura ganglionar se borra parcialmente con la retención de pocos folículos en regresión. Los senos subcapsulares se conservan e incluso se dilatan. La paracorteza contiene HEV arborizantes y hay una proliferación de FDC más allá del folículo de linfocitos B. Las células neoplásicas son de tamaño pequeño a mediano, con atipia citológica mínima. Con frecuencia tienen citoplasma claro a pálido, y pueden mostrar membranas de linfocitos T distintivas. Suele ser evidente un fondo inflamatorio polimorfo.

Aunque AITL es una neoplasia maligna de linfocitos T, existe una expansión característica de linfocitos B y células plasmáticas, lo que probablemente refleja la función de las células neoplásicas tales como linfocitos TFH. Están presentes tanto los linfocitos B EBV positivos como EBV negativos. Ocasionalmente, los linfocitos B atípicos pueden parecerse morfológica e inmunofenotípicamente a los linfocitos de tipo Hodgkin/Reed-Sternberg, lo que a veces conduce a una confusión diagnóstica con esa entidad. La proliferación de linfocitos B en AITL puede ser extensa y algunos pacientes desarrollan linfomas de linfocitos B grandes difusos EBV positivos secundarios (DLBCL) o, más raramente, tumores de linfocitos B EBV negativos, a menudo con diferenciación plasmocítica.

Los linfocitos T neoplásicos CD4 positivos de AITL muestran una fuerte expresión de CD10 y CD279 (PD-1) y son positivas para CXCL13. CXCL13 conduce a un aumento en el reclutamiento de linfocitos B a los ganglios linfáticos mediante la adhesión HEV, activación de los linfocitos B, diferenciación plasmática y expansión de la malla de FDC, contribuyendo todo a las características morfológicas y clínicas de AITL. La expresión intensa de PD-1 en las células tumorales perifoliculares es particularmente útil para distinguir el Patrón I de AITL de la hiperplasia folicular y paracortical reactiva.

La variante folicular de PTCL-NOS es otra entidad con un fenotipo TFH. En contraposición a AITL, no tiene HEV prominentes ni expansión extrafolicular de mallas de FDC. Las células neoplásicas pueden formar agregados intrafoliculares, imitando el linfoma folicular de linfocitos B, pero también pueden tener un patrón de crecimiento interfolicular o implicar zonas de manto expandidas. Clínicamente, la variante folicular de PTCL-NOS es distinta de AITL, ya que los pacientes presentan con mayor frecuencia enfermedad en estadio temprano con afectación parcial de los ganglios linfáticos y pueden carecer de los síntomas constitucionales asociados con AITL.

LINFOMA ANAPLÁSICO DE CÉLULAS GRANDES(ALCL)

ALCL puede subdividirse como ALCL-'quinasa de linfoma anaplásico' (ALK)+ o ALCL-ALK-.

ALCL-ALK+ es una de las entidades mejor definidas dentro de los linfomas periféricos de linfocitos T, con características "células distintivas" con núcleos en forma de herradura y que expresan ALK y CD30. Representa aproximadamente el 7 % de todos los linfomas periféricos de linfocitos T y linfocitos NK y es más común en las primeras tres décadas de vida. Los pacientes a menudo presentan linfadenopatía, pero la participación de sitios extraganglionares (piel, hueso, tejidos blandos, pulmón, hígado) y síntomas B es común.

ALCL, ALK + muestra un amplio espectro morfológico, con 5 patrones diferentes descritos, pero todas las variantes contienen algunas células distintivas. Las células distintivas tienen núcleos excéntricos en forma de herradura o riñón, y una prominente región de Golgi eosinófila perinuclear. Las células tumorales crecen en un patrón cohesivo con predilección por la afectación sinusal. Las células tumorales más pequeñas predominan en la variante de células pequeñas, y en la variante linfohistiocítica abundantes histiocitos enmascaran la presencia de células tumorales, muchas de las cuales son pequeñas.

Por definición, todos los casos muestran positividad para ALK y CD30, con una expresión generalmente más débil en las células tumorales más pequeñas. Con frecuencia hay pérdida de marcadores de linfocitos pan-T, y el 75 % de los casos carece de expresión superficial de CD3.

La expresión de ALK es el resultado de una alteración genética recurrente característica que consiste en un reordenamiento del gen ALK en el cromosoma 2p23 a uno de los muchos genes asociados, lo que da como resultado una expresión de proteína quimérica. El gen asociado más común, que aparece en el 75 % de los casos, es la Nucleofosmina (*NPM1*) en el cromosoma 5q35, dando como resultado t(2; 5) (p23;q35). La distribución celular de ALK en diferentes variantes de translocación puede variar según el gen asociado.

ALCL-ALK- se incluye como categoría provisional en la clasificación de la OMS de 2008. Se define como un linfoma de linfocitos T CD30 positivo que es morfológicamente indistinguible de ALCL-ALK+ con un patrón de crecimiento

cohesivo y presencia de células distintivas, pero que carece de expresión de proteína ALK.

Los pacientes suelen ser adultos entre las edades de 40 y 65 años, en contraste con ALCL-ALK+, que es más común en niños y adultos jóvenes. ALCL-ALK- puede implicar tanto a los ganglios linfáticos como a los tejidos extraganglionares, aunque esto último se ve con menos frecuencia que en ALCL-ALK+. La mayoría de los casos de ALCL-ALK- demuestran el borramiento de la arquitectura de los ganglios linfáticos por láminas de células neoplásicas cohesivas con características típicas "distintivas". Al contrario del ALCL-ALK+, no se reconoce la variante morfológica de células pequeñas.

A diferencia de su homólogo ALK+, ALCL-ALK- muestra una mayor conservación de la expresión del marcador de linfocitos T de superficie, mientras que es menos probable la expresión de marcadores citotóxicos y antígeno de membrana epitelial (EMA). Las firmas de expresión génica y los desequilibrios cromosómicos recurrentes son diferentes en ALCL-ALK- y ALCL-ALK+, confirmando que son entidades distintas a nivel molecular y genético.

ALCL-ALK- es clínicamente distinto tanto de ALCL-ALK+ como de PTCL-NOS, con diferencias significativas en el pronóstico entre estas tres entidades diferentes. La supervivencia general a 5 años de ALCL-ALK- se indica como el 49 %, lo que no es tan bueno como la de ALCL-ALK+ (70 %), pero al mismo tiempo es significativamente mejor que la de PTCL-NOS (32 %).

LINFOMA DE LINFOCITOS T ASOCIADO A ENTEROPATÍA (EATL)

EATL es una neoplasia agresiva que se cree que deriva de los linfocitos T intraepiteliales del intestino. Se reconocen dos tipos morfológicamente, inmunohistoquímicamente y genéticamente distintos de EATL en la clasificación de la OMS de 2008: Tipo I (que representa la mayoría de EATL) y Tipo II (que comprende el 10-20 % de los casos).

El EATL Tipo I generalmente se asocia con enteropatía abierta o clínicamente silenciosa sensible al gluten, y se observa con mayor frecuencia en pacientes de extracción del Norte de Europa debido a la alta prevalencia de enfermedad celíaca en esta población.

Muy frecuentemente, las lesiones de EATL se encuentran en el yeyuno o el íleon (90 % de los casos), con presentaciones raras en duodeno, colon, estómago o áreas fuera del tracto gastrointestinal. Las lesiones intestinales suelen ser multifocales con ulceración de la mucosa. El curso clínico de EATL es agresivo con la mayoría de los pacientes que mueren de enfermedad o complicaciones de la enfermedad dentro de 1 año.

El espectro citológico de EATL Tipo I es amplio, y algunos casos pueden contener células anaplásicas. Hay un fondo inflamatorio polimorfo, que puede complicar el componente neoplásico en algunos casos. La mucosa intestinal en regiones adyacentes al tumor a menudo muestra características de enfermedad celíaca con embotamiento de las vellosidades y un mayor número de linfocitos intraepiteliales (IEL), que pueden representar células precursoras de lesiones.

Por inmunohistoquímica, las células neoplásicas con frecuencia son CD3+CD4-CD8-CD7+CD5-CD56-βF1+ y contienen proteínas citotóxicas asociadas a gránulos (TIA-1, granzima B, perforina). CD30 se expresa parcialmente en casi todos los casos. CD103, que es un receptor de migración dirigida de la mucosa, se puede expresar en EATL.

El EATL Tipo II, también conocido como linfoma de linfocitos T intestinal monomórfico CD56+, se define como un tumor intestinal compuesto de linfocitos T monomórficos de tamaño pequeño a mediano que expresan tanto CD8 como CD56. Con frecuencia hay una diseminación lateral del tumor dentro de la mucosa y ausencia de fondo inflamatorio. La mayoría de los casos expresan el TCR γδ, sin embargo, hay casos asociados con el TCR αβ.

El EATL Tipo II tiene una mayor distribución mundial que el EATL Tipo I y con frecuencia se observa en poblaciones Asiáticas o Hispanas, en quienes la enfermedad celíaca es rara. En individuos de ascendencia Europea EATL, II representa aproximadamente el 20 % de los linfomas intestinales de linfocitos T, con antecedentes de enfermedad celíaca en al menos un subconjunto de casos. El curso clínico es agresivo.

LINFOMA HEPATOESPLÉNICO DE LINFOCITOS T (HSTL)

HSTL es una neoplasia sistémica agresiva generalmente procedente de linfocitos T citotóxicos γδ del sistema inmunitario innato, sin embargo, también puede proceder de linfocitos T αβ en casos raros. Es uno de los linfomas de linfocitos T más raros, y generalmente afecta a adolescentes y adultos jóvenes (edad media, 35 años) con un fuerte predominio masculino.

LINFOMA EXTRAGANGLIONAR DE TIPO NASAL DE LINFOCITOS NK/T

El linfoma de linfocitos NK/T-extraganglionar, tipo nasal, es una enfermedad agresiva, a menudo con lesiones destructivas de la línea media y necrosis. La mayoría de los casos son de procedencia de linfocitos NK, pero algunos casos proceden de linfocitos T citotóxicos. Está universalmente asociado con el virus de Epstein-Barr (EBV).

LINFOMA CUTÁNEO DE LINFOCITOS T

El método de la presente divulgación también se puede usar para tratar el linfoma cutáneo de linfocitos T.

El linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL) se caracteriza por la migración de linfocitos T malignos a la piel, lo que hace que aparezcan varias lesiones. Estas lesiones cambian de forma a medida que la enfermedad progresa, generalmente comienzan como lo que parece ser una erupción y eventualmente forman placas y tumores antes de hacer metástasis a otras partes del cuerpo.

Los linfomas cutáneos de linfocitos T incluyen los mencionados en la siguiente lista ilustrativa, no exhaustiva; micosis fungoide, reticulosis pagetoide, síndrome de Sezary, piel flácida granulomatosa, papulosis linfomatoide, pitiriasis liquenoide crónica, linfoma cutáneo de linfocitos T CD30+, linfoma cutáneo secundario de linfocitos grandes CD30+, linfoma cutáneo de linfocitos T grandes CD30- distintos de micosis fungoides, linfoma pleomórfico de linfocitos T, Linfoma de Lennert, linfoma subcutáneo de linfocitos T y linfoma angiocéntrico.

Los signos y síntomas de CTCL varían según la enfermedad específica, de las que los dos tipos más comunes son micosis fungoide y síndrome de Sezary. La micosis fungoide clásica se divide en tres etapas:

Parche (atrófico o no atrófico): Dermatitis no específica, placas en la parte inferior del tronco y las nalgas; prurito mínimo/ausente; Placa: placas intensamente pruriginosas, linfadenopatía; y Tumor: Propenso a la ulceración

El síndrome de Sezary se define por eritrodermia y leucemia. Los signos y síntomas incluyen piel edematosa, linfadenopatía, hiperqueratosis palmar y/o plantar, alopecia, distrofia ungueal, ectropión y hepatoesplenomegalia.

De todos los linfomas cutáneos primarios, el 65 % son del tipo de linfocitos T. El inmunofenotipo más común es el CD4 positivo. No existe una fisiopatología común para estas enfermedades, ya que el término linfoma cutáneo de linfocitos T abarca una amplia variedad de trastornos.

No se han dilucidado los mecanismos etiológicos primarios para el desarrollo del linfoma cutáneo de linfocitos T (es decir, micosis fungoides). La micosis fungoide puede estar precedida por una enfermedad cutánea inflamatoria crónica mediada por linfocitos T, que en ocasiones puede progresar a un linfoma mortal.

ALCL CUTÁNEO PRIMARIO(C-ALC)

C-ALCL es a menudo indistinguible de ALC-ALK- por la morfología. Se define como un tumor cutáneo de células grandes con morfología anaplásica, pleomórfica o inmunoblástica, con más del 75 % de las células que expresan CD30. Junto con la papulosis linfomatoide (LyP), C-ALCL pertenece al espectro de trastornos linfoproliferativos cutáneos primarios de linfocitos T CD30 positivos, que como grupo comprenden el segundo grupo más común de linfoproliferaciones cutáneas de linfocitos T después de la micosis fungoide.

El perfil de tinción inmunohistoquímica es bastante similar a ALCL-ALK-, con una mayor proporción de casos con tinción positiva para marcadores citotóxicos. Al menos el 75 % de las células tumorales deberían ser positivas para CD30. También se puede expresar CD15, y cuando se produce afectación de ganglios linfáticos, el diferencial con el linfoma de Hodgkin clásico puede ser difícil. Los casos raros de ALCL-ALK+ pueden presentarse con lesiones cutáneas localizadas y pueden parecerse a C-ALCL.

LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE LINFOCITOS T

La leucemia linfooblástica aguda de linfocitos T (ALL-T) representa aproximadamente el 15 % y el 25 % de la ALL en cohortes pediátricas y de adultos, respectivamente. Los pacientes generalmente tienen un recuento alto de glóbulos blancos y pueden presentar organomegalia, particularmente agrandamiento mediastínico y afectación del SNC.

El método de la presente divulgación puede usarse para tratar T-ALL que se asocia con el linfocito T maligno que expresa un TCR que comprende una TRBC.

LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA DE LINFOCITOS T

La leucemia prolinfocítica de linfocitos T (T-PLL) es una leucemia de linfocitos T maduros con comportamiento agresivo y predilección por la afectación de la sangre, médula ósea, ganglios linfáticos, hígado, bazo y piel. T-PLL afecta principalmente a adultos mayores de 30 años. Otros nombres incluyen leucemia linfofítica crónica de linfocitos T, leucemia de linfocitos T de tipo "nudoso" y leucemia prolinfocítica T/leucemia linfofítica de linfocitos T.

En la sangre periférica, T-PLL consiste en linfocitos de tamaño mediano con nucleolos únicos y citoplasma basófilo con ampollas o proyecciones ocasionales. Los núcleos son generalmente de forma redonda a ovalada, y

ocasionalmente los pacientes tienen células con un contorno nuclear más irregular que es similar a la forma nuclear cerebriforme que se observa en el síndrome de Sezary. Una variante de células pequeñas comprende el 20 % de todos los casos de T-PLL, y la variante similar a las células de Sezary (cerebriforme) se observa en el 5 % de los casos.

T-PLL tiene el inmunofenotipo de un linfocito T maduro (post-tímico), y las células neoplásicas son generalmente positivas para los antígenos pan-T CD2, CD3 y CD7 y negativas para TdT y CD1a. El inmunofenotipo CD4+/CD8- está presente en el 60 % de los casos, el inmunofenotipo CD4+/CD8+ está presente en el 25 %, y el inmunofenotipo CD4-/CD8+ está presente en el 15 % de los casos.

COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA

El método de la presente divulgación puede comprender la etapa de administrar el agente en forma de una composición farmacéutica.

El agente puede administrarse con un vehículo, diluyente, excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable. La elección del vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico se puede seleccionar con respecto a la ruta de administración prevista y la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como (o además de) el vehículo, excipiente o diluyente, cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento, agente solubilizante y otros agentes transportadores adecuados.

ADMINISTRACIÓN

La administración del agente se puede lograr utilizando cualquiera de una variedad de rutas que hacen que el principio activo esté biodisponible. Por ejemplo, el agente se puede administrar por vía oral o parenteral, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía transcutánea, por vía intramuscular, mediante suministro local, por ejemplo por catéter o stent.

Generalmente, el médico determinará la dosificación real que será la más adecuada para un sujeto individual y variará dependiendo de la edad, el peso y la respuesta del paciente particular. La dosificación es tal que es suficiente para reducir o agotar el número de linfocitos T clonales que expresan TRBC1 o TRBC2.

USO

La presente invención también proporciona un agente para su uso en el tratamiento de un linfoma de linfocitos T de acuerdo con el método de la presente divulgación. El agente puede ser cualquier agente como se define anteriormente.

La presente invención también proporciona el uso de un agente como se define anteriormente en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un linfoma de linfocitos T de acuerdo con el método divulgado.

KIT

La presente invención también proporciona un kit que comprende una gente como se define anteriormente para su uso en el tratamiento de un linfoma de linfocitos T de acuerdo con el método de la presente divulgación.

El kit también puede comprender uno o más reactivos adecuados para determinar la TRBC de un linfocito T maligno. Por ejemplo, el kit puede comprender cebadores de PCR o un anticuerpo (anticuerpos) que son específicos para TRBC1 o TRBC2.

MÉTODO PARA DETERMINAR EL LINFOMA Y/O LEUCEMIA DE LINFOCITOS T

La presente invención se refiere además a un método para determinar la presencia de un linfoma o leucemia de linfocitos T en un sujeto que comprende la etapa de determinar la proporción de linfocitos T en una muestra de un sujeto que son TRBC1 o TRBC2 positivos.

Los linfomas de linfocitos T implican la expansión clonal de linfocitos T malignos individuales. Como tal, la presencia de un linfoma de linfocitos T en un sujeto puede identificarse determinando la proporción de linfocitos T TRBC1 o TRBC2 en una muestra derivada de un paciente.

La muestra puede ser una muestra de sangre periférica, una muestra de linfa o una muestra tomada directamente de un tumor, p.ej., una muestra de biopsia.

La proporción de linfocitos T totales que son TRBC1 o TRBC2 positivos que indica la presencia de un linfoma o leucemia de linfocitos T puede ser, por ejemplo, el 80, 85, 90, 95, 98 o el 99 % de una población total de células.

El método puede implicar determinar la infiltración de una población distinta de linfocitos T en una biopsia o una

muestra. En el presente documento, la presencia de un linfoma o leucemia de linfocitos T está indicada cuando el 80, 85, 90, 95, 98 o 99 % de la población total de linfocitos T en la muestra son TRBC1 o TRBC2.

La totalidad de linfocitos T en una muestra puede identificarse determinando el número de linfocitos en la muestra que expresan CD3, CD4, CD8 y/o CD45. También se puede usar una combinación de estos marcadores.

La proporción de linfocitos T totales en una muestra que expresa TRBC1 o TRBC2 puede determinarse usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, citometría de flujo, inmunohistoquímica o microscopía fluorescente.

La invención se describirá adicionalmente a continuación por medio de Ejemplos, que pretenden servir para ayudar a un experto en la materia a poner en práctica la invención y que de ninguna manera pretenden limitar el alcance de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Discriminación de las linfocitos que expresan TRBC1 y TRBC2

El anticuerpo JOVI-1 fue previamente divulgado por Viney et al. (Hibridoma; 1992; 11(6); 701-713) y está disponible comercialmente (Abcam, ab5465). Los presentes inventores determinaron que JOVI-1 es capaz de discriminar linfocitos basándose en la expresión específica de TRBC1 o TRBC2.

Los presentes inventores generaron dos vectores plasmídicos que suministran las regiones variables y constantes completas del TCR, que difieren solo en la expresión de TRBC1 o TRBC2. Estos plásmidos se usaron para generar sobrenadante retroviral por transfección transitoria de células 293T. Este sobrenadante se usó para transducir de manera estable los linfocitos T Jurkat con TCR desactivados (una línea celular T-ALL con una mutación en el locus de la cadena beta de TCR que impide la expresión de esta cadena y, por lo tanto, toda el complejo de superficie TCR/CD3). Esto dio como resultado la producción de líneas celulares que eran idénticas además de la expresión de TRBC1 o TRBC2. La tinción de estas líneas celulares reveló la expresión completa del complejo de superficie TCR/CD3 y que únicamente las células que expresan TRBC1 se tiñeron con el anticuerpo JOVI-1 (Figura 4).

Ejemplo 2 - Los linfocitos T CD4+ y CD8+ de donantes normales contienen poblaciones separadas TRBC1-positivas y TRBC1-negativas

Los presentes inventores probaron el anticuerpo JOVI-1 en linfocitos T humanos primarios de donantes normales. Estos análisis revelaron que todos los donantes tenían una proporción tanto de linfocitos T CD4+ como y CD8+ que expresaban TRBC1 y una proporción de cada uno que no. Aproximadamente el 20-50 % de los linfocitos T CD4+ y CD8+ normales son TRBC1 positivo (Figuras 6 y 7).

Ejemplo 3 - Las líneas clonales de linfocitos T que expresan TCR son TRBC1 positivas o negativas

Las líneas celulares proceden de una población de tumores clonales originales en un paciente. La tinción de las líneas de linfocitos T que expresan TCR revela que los linfocitos T expresan TRBC1 o TRBC2, confirmando esto como un marcador de clonalidad. De las tres líneas de linfocitos T analizadas, las células Jurkat (que se sabe que son TRBC1+) y no las células HPB-ALL o HD-Mar-2 (que se sabe que son TRBC2+) se tiñen con JOVI-1, lo que respalda la expresión exclusiva de TRBC1 o 2 (Figura 8).

Ejemplo 4 - Los linfocitos T clonales primarios en pacientes con leucemia prolinfocítica T son TRBC1 positivos o negativos

Los linfocitos T clonales extraídos de la sangre periférica de pacientes con leucemia linfocítica T (T-PLL) son uniformemente TRBC1 positivos o TRBC1 negativos.

Ejemplo 5 - El efecto de la mutación de los restos que son únicos para TRBC1

Se generaron vectores plasmídicos, que codifican TCR que son idénticos, a excepción de las mutaciones híbridas TRBC1/2 en la región constante de la cadena TCR β . El análisis mostró que JOVI-1 reconoce las diferencias en los restos en las posiciones 3 y 4 de la cadena constante de TCR β , indicando que estos restos son accesibles para el reconocimiento por anticuerpos y son probablemente las mejores dianas para generar agentes que discriminan TRBC1 de TRBC2 o TRBC2 de TRBC1 (Figura 5).

Ejemplo 6: Lisis específica de linfocitos T que expresan TCR TRBC1 pero no TRBC2.

Los linfocitos T Jurkat de tipo silvestre (CD34-, TRBC1+) se mezclaron con linfocitos T Jurkat con TCR $\alpha\beta$ desactivado transducidos con TRBC2 expresado conjuntamente con el gen marcador CD34 (CD34+TRBC2 +). Estas células se incubaron con JOVI-1 solo o se incubaron con JOVI-1 y complemento durante 1 hora. Las células se lavaron y se tiñeron para CD34, Anexina V y 7-AAD. Las células se analizaron por citometría de flujo.

La expresión de CD34 en la población viva tal como se define por la población Anexina- V negativa y 71AAD dim se muestra en la Figura 9. Se observó destrucción selectiva de linfocitos T TRBC1 (CD34-)(Figura 9).

- 5 Los linfocitos T Jurkat de tipo silvestre son naturalmente TRBC1+ y no expresan el gen marcador CD34 truncado. Como se describe anteriormente, los presentes inventores obtuvieron una línea Jurkat TRBC2+ transduciendo linfocitos T Jurkat TCR $\alpha\beta$ desactivado con un vector retroviral que codifica un TCR TRBC2 así como el gen marcador CD34 truncado. Estos linfocitos T se mezclaron después. A continuación, los presentes inventores incubaron los linfocitos T con JOVI-1 solo o con JOVI-1 y complemento durante 1 hora. De manera conveniente, los presentes inventores pudieron discriminar las poblaciones TRBC1 y 2 al teñir el gen marcador CD34 y así evitaron no detectar los TCR TRBC1 debido a la internalización de TCR después de una exposición prolongada al mAb anti-TCR. Las células se lavaron y se teñieron para CD34, Anexina V y 7-AAD. Las células se analizaron por citometría de flujo. Al seleccionar células vivas (es decir, células que eran Anexina V negativas y 7-AAD dim), los presentes inventores pudieron determinar que JOVI-1 destruyó selectivamente los linfocitos T TRBC1 en presencia de complemento (Figura 9).

Ejemplo 7 - Los linfocitos T policlonales específicos del virus de Epstein Barr (EBV) se pueden dividir en dos poblaciones de TRBC1/2 aproximadamente iguales.

- 20 Los linfocitos T de sangre periférica se extrajeron de un donante de sangre normal. Las células mononucleares se aislaron y la mayoría de las células se criopreservaron. Un pequeño número de células se infectaron con una cepa de laboratorio de EBV (B95-8). Durante algunas semanas, surgió una línea celular inmortalizada infectada con EBV, conocida como línea celular linfoblastoide (LCL). Se sabe que dicha línea celular presenta una gran colección de diferentes antígenos de EBV. Las células mononucleares previamente criopreservadas se descongelaron y se estimularon de forma repetida con esta línea LCL semanalmente durante 4 semanas en presencia de IL2. Este proceso expande selectivamente linfocitos T específicos de EBV a partir de la población mononuclear de sangre periférica. También se sabe que dicho proceso da como resultado una línea policlonal en la que > 90 % de los linfocitos T son específicos de EBV y representan el sistema inmunitario contra EBV del donante. La especificidad de esta línea se verifica mostrando un alto grado de destrucción de LCL autólogos pero no de LCL alogénicos o células K562 (Figura 10a). Esta línea celular se teñió con JOVI-1 y se mostró que contenía una mezcla aproximadamente igual de linfocitos T TRBC1 y TRBC2 (Figura 10b).

- 35 Por lo tanto, si se administrara un agente terapéutico que agotara el compartimento TRBC1 o TRBC2, quedaría una inmunidad adecuada contra EBV. Debido a que la inmunidad contra el VEB se considera como un sistema modelo para una respuesta inmunitaria, es razonable postular que la inmunidad a otros patógenos se conservaría igualmente.

Ejemplo 8 - Tinción con JOVI-1 de un linfoma periférico circulante de linfocitos T.

- 40 La hipótesis era que los linfomas de linfocitos T, siendo clonales, expresarían receptores de linfocitos T TRBC1 o TRBC2, mientras que los linfocitos T normales que serían policlonales formarían parte de una población de linfocitos T que son una mezcla de los que tienen TRBC1 o TRBC2. Para demostrar esto, se obtuvo una muestra de sangre de un linfoma de linfocitos T de un paciente cuyo linfoma circulaba en sangre periférica. Las células mononucleares periféricas se aislaron y se teñieron con un grupo de anticuerpos que incluía CD5 y JOVI1. Primero se identificó la población total de linfocitos T (que contiene tanto linfoma como linfocitos T normales). Esta población estaba compuesta por linfocitos T con expresión CD5 normal (bright) y linfocitos T con expresión CD5 intermedia/dim. Los primeros representan linfocitos T normales, mientras que los segundos representan el linfoma. A continuación se investigó la unión de JOVI-1 y los resultados se muestran en la Figura 12. Las poblaciones de CD5 intermedios y dim (el tumor) fueron todas TRBC2 positivas.

- 50 Ejemplo 9 - Elucidación de las secuencias VH/VL de JOVI-1

- Usando 5' RACE con cebadores que hibridan con las regiones constantes de CH1 de IgG de ratón y la región constante de kappa de ratón, se aisló una secuencia VH funcional única y una secuencia VL funcional única del JOVI-1 de hibridoma. Las secuencias de VH y VL son la SEQ ID 1 y 2 respectivamente (véase arriba). Una secuencia anotada de VH y VL se muestra en la Figura 11.

- Estas secuencias de VH y VL se clonaron de nuevo en marco con la cadena pesada de IgG y la cadena ligera kappa de ratón, respectivamente. Además, las VH y VL se fusionaron para formar un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), este se fusionó con la región bisagra-CH2-CH3 de IgG2a de ratón para crear un scFv-Fv. La secuencia de aminoácidos del scFv se proporciona en la Descripción detallada como la SEQ ID NO: 3. El anticuerpo recombinante y el scFv-Fc recombinante se generaron por transfección en células 293T. Junto con JOVI-1 del hibridoma, se teñieron las siguientes células: Jurkat con TCR desactivado; Jurkat de tipo silvestre; Jurkat con TCR desactivado transducidas con TRBC1 coexpresada con eBFP2 y Jurkat con TCR desactivado transducidas con TRBC2 coexpresada con eBFP2. Tanto el anticuerpo recombinante como scFv-Fc procedentes de JOVI unido a TRBC2 confirman que se ha identificado la VH/VL correcta, y que VH/VL de JOVI-1 puede plegarse como un scFv. Estos datos de unión se muestran en la Figura 13.

Ejemplo 10 - Función de CAR basado en JOVI-1

El scFv de JOVI-1 se clonó en formatos CAR. Para dilucidar qué longitud del espaciador daría como resultado un CAR óptimo basado en JOVI-1, se generaron CAR de 3ª generación con un espaciador de Fc humano, un espaciador de tallo de CD8 humano o con un espaciador derivado de una bisagra de IgG1 (Figura 4). Los linfocitos T humanos primarios de donantes normales se transdujeron con estos CAR y se comparó la destrucción de Jurkat y Jurkat con TCR desactivado. Los CAR con scFv de JOVI-1 que tenían un espaciador de bisagra de IgG1 o un espaciador de tallo de CD8 destruyeron Jurkat, pero no a Jurkat con TCR desactivado (Figura 5), demostrando la especificidad esperada. Debido a que los linfocitos T de donantes normales transducidos con los CAR deberían tener una mezcla de linfocitos T TRB1/2, se esperaba que los cultivos se "autoeliminaran". De hecho, se observó esto. La tinción con JOVI-1 de los cultivos de linfocitos T con CAR que se vuelven 100 % negativas para TRBC2 como se muestra en la Figura 6.

MATERIALES Y MÉTODOS

DEMOSTRACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD DE JOVI-1

Se generó un casete retroviral tricistrónico que codificaba un TCR humano bien caracterizado así como un gen marcador adecuado. Las secuencias de codificación para las cadenas TCR α y β se generaron usando síntesis de genes de novo a partir de oligonucleótidos solapantes. Estas cadenas se conectaron en marco a un péptido 2A para la fiebre aftosa para permitir la coexpresión. El gen marcador CD34 truncado se clonó a partir de ADNc por PCR y se coexpresó con las cadenas de TCR usando una secuencia interna de entrada al ribosoma (IRES, por sus siglas en inglés). Este casete se introdujo en un vector retroviral. Las variantes de esta construcción se generaron mediante corte y empalme mediante PCR solapante con cebadores que introdujeron las mutaciones deseadas. La veracidad de las construcciones se confirmó mediante secuenciación de Sanger. La línea Jurkat 76 es un derivado bien caracterizado de la línea de linfocitos T Jurkat que tiene las cadenas tanto TCR α como β desactivadas. Esta línea Jurkat se transdujo con los vectores retrovirales anteriores utilizando técnicas convencionales.

TINCIÓN Y ANÁLISIS DE JURKAT, LINFOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA Y LÍNEAS CELULARES

Los Jurkat se obtuvieron de ECACC y se genomanipularon como se detalla anteriormente. También se obtuvieron otras líneas de linfocitos T de ECACC. La sangre periférica fue extraída por venopuntura de donantes normales. La sangre se ficolizó para aislar células mononucleares. Las células se tiñeron con JOVI-1, así como con anticuerpos monoclonales disponibles comercialmente que reconocen todos los TCR y CD3. En el caso de los linfocitos T modificados, las células se tiñeron con anticuerpos que reconocen CD34. En el caso de células mononucleares de sangre periférica, las células se tiñeron con anticuerpos que reconocen CD4 y CD8. Los anticuerpos se adquirieron conjugados con fluoróforos adecuados para poder obtener señales fluorescentes independientes mientras se analizaban las células con un citómetro de flujo.

DEMOSTRACIÓN DE LISIS ESPECÍFICA DE LINFOCITOS T TRBC1

Los linfocitos T Jurkat de tipo silvestre (TRBC1 - TCR) y los linfocitos T Jurkat TCR KO(knock out, con TCR desactivados) con TCR TRBC2 introducido se mezclaron en una proporción de 1:1. Esta mezcla de Jurkat se incubó después con anticuerpo monoclonal JOVI-1 a 1 μ g/ml en ausencia o presencia de complemento. Cuatro horas después, las células se tiñeron con Anexina-V y 7AAD y CD34. De manera conveniente, el gen marcador CD34 puede distinguir entre Jurkat de tipo silvestre (TRBC1) y transgénicos (TRBC2). Las poblaciones de células se analizaron por citometría de flujo. Las células vivas se estudiaron selectivamente seleccionando eventos citométricos de flujo que son negativos para anexina-V e intermedios para 7AAD. De esta forma, se estudió la supervivencia de linfocitos T transgénicos (TRBC2) frente a los de tipo silvestre (TRBC1).

Ejemplo 11 - Investigación de la clonalidad de los trastornos linfoproliferativos de linfocitos T

Cuatro pacientes: tres con trastorno linfoproliferativo de linfocitos granulares grandes de linfocitos T (T-LGL); y uno con linfoma periférico de linfocitos T (PCTL) se evaluaron para confirmar que las células malignas eran uniformemente TRBC1 positivas o negativas.

Se recogió sangre completa o médula ósea de pacientes con desórdenes linfoproliferativos-T. Se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) por centrifugación en gradiente de Ficoll. Las PBMC recién obtenidas se sedimentaron y se tiñeron durante 20 minutos con anticuerpos conjugados previamente apropiados. Las células se lavaron después y se resuspendieron en solución salina tamponada con fosfato para el análisis citométrico de flujo inmediato en BD LSR Fortessa II. Los linfocitos vivos se identificaron por las propiedades FSc/SSc y la incapacidad de captar un tinte discriminador de células muertas. Los linfocitos T se identificaron mediante tinción con anticuerpo anti-TCR alfa/beta. Las poblaciones de linfocitos T tumorales y normales se identificaron usando tinciones de superficie celular apropiadas para cada muestra, basándose en el inmunofenotipo previamente identificado por análisis de laboratorio clínico.

Los resultados se muestran en las Figuras 18 a 21.

En el paciente A (T-LGL, Figura 18), los linfocitos T normales eran CD7^{bright} y contenían células CD4/CD8 mixtas, y una población mixta de linfocitos TRBC1 o TRBC1⁻. Por el contrario, los linfocitos malignos fueron CD7⁻ o CD7^{dim}, fueron uniformemente CD8⁺CD4⁻ y fueron uniformemente TRBC1⁻.

En el paciente B (T-LGL, Figura 19), los linfocitos malignos se identificaron por CD4⁻, CD8⁺, CD7⁺ CD57⁺ y clonalmente fueron TRBC1⁻ (panel resaltado). Los linfocitos T CD4⁺CD8⁻ y CD4⁻CD8⁺ normales contenían poblaciones TRBC1⁺ y TRBC1⁻.

En el paciente C (T-LGL, Figura 20), las poblaciones normales de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ fueron 30-40 % TRBC1⁺. Los linfocitos malignos se identificaron por CD4⁻, CD8⁺, CD7⁺ CD57⁺ y clonalmente fueron TRBC1⁻ (panel resaltado, téngase en cuenta que el 84 % de los linfocitos son TRBC1⁻, el 16 % restante es probable que estén contaminando los linfocitos T 'normales'). Los linfocitos T CD4⁺CD8⁻ y CD4⁻CD8⁺ normales contenían poblaciones TRBC1⁺ y TRBC1⁻.

En el paciente D (PTCL-NOS, Figura 21), los linfocitos malignos en la médula ósea, identificados basándose en FSChigh CD5^{dim} CD4^{dim}, eran TRBC1⁺ uniformemente, mientras que los linfocitos T CD4⁺CD8⁻ y CD4⁻CD8⁺ contenían poblaciones TRBC1⁺ y TRBC1⁻.

Ejemplo 12 - Generación de anticuerpos monoclonales humanos que distinguen entre las dos isoformas del dominio constante de la cadena β de receptores de linfocitos T utilizando la presentación en fagos

Para generar anticuerpos que distinguieran entre TRBC2 y TRBC1, se sintetizaron fragmentos de péptidos que cubrían la región de diferencia entre las dos isoformas de TRBC. De las cuatro diferencias de aminoácidos entre TRBC2 y TRBC1, dos se encuentran al comienzo de los dominios constantes. Los péptidos (véase a continuación) que representan estas regiones se sintetizaron y usaron para la generación de anticuerpos.

TRBC2 VLEDLKNVFPPEVAV (SEQ ID NO: 36)

TRBC1 VLEDLNKVPPEVAV (SEQ ID NO: 37)

Estos péptidos se prepararon en formas biotiniladas, no biotiniladas y modificadas con cisteína (mediante la adición de una cisteína C terminal). Las formas modificadas con cisteína de TRBC1 y TRBC2 se conjugaron posteriormente con albúmina de suero bovino modificado (Imm-Link BSA, Innova 462-001) u ovoalbúmina (Imm-Link Ovalbumin, Innova 461-001) de acuerdo con las condiciones recomendadas por los fabricantes.

Resultados

Selecciones por presentación en fagos de anticuerpos

Se construyó una biblioteca de presentación en fagos humana y las selecciones por fagos se llevaron a cabo como se describe en (Schofield et al., 2007 Genome Biol 8, R254). Para identificar los anticuerpos específicos de TRBC1 y TRBC2 a partir de la biblioteca de anticuerpos, se llevaron a cabo múltiples rondas de selecciones por presentación en fagos. Se usaron dos estrategias de selección por fagos en paralelo para maximizar la posibilidad de generar un gran grupo de aglutinantes específicos. Estas estrategias se conocen como selecciones en fase sólida y en fase de solución (Figura 21). En las selecciones en fase sólida, se permite que los anticuerpos de los fagos se unan al antígeno diana inmovilizado en una superficie sólida (Schofield et al., 2007, como anteriormente). En las selecciones en fase de solución, los anticuerpos de los fagos se unen al antígeno biotinilado en solución y el complejo de anticuerpo de fago-antígeno es capturado por perlas paramagnéticas recubiertas por estreptavidina o neutravidina. Dentro de la estrategia de selección en fase sólida, se emplearon dos enfoques diferentes de inmovilización o presentación de antígeno. Usando el primer enfoque, los péptidos TRBC conjugados con albúmina de suero bovino (BSA) u ovoalbúmina (OA) se inmovilizaron en inmunotubos Maxisorp™ mediante adsorción directa. Usando el segundo enfoque, los péptidos TRBC biotinilados se inmovilizaron indirectamente en tubos de inmunotubos Maxisorp™ que se recubrieron previamente con estreptavidina o neutravidina.

Para seleccionar anticuerpos que son específicos para el péptido deseado, todas las selecciones se llevaron a cabo en presencia de un exceso del péptido opuesto. Por ejemplo, todas las selecciones de TRBC1 se llevaron a cabo en presencia de un exceso molar de 10 veces de TRBC2 no biotinilado. Este método se conoce como "desactivación" y se esperaba que agotara los anticuerpos que reconocen epítomos compartidos en ambos péptidos TRBC ya que estos se unen preferentemente al exceso de TRBC2 en solución. Para evitar el enriquecimiento de los clones de anticuerpos que se unen a la proteína portadora (BSA u OA) o al compañero de inmovilización (estreptavidina o neutravidina de Thermo fisher scientific), se emplearon dos estrategias en combinación.

La primera estrategia fue cambiar el compañero de conjugación o inmovilización entre rondas de selección. Para los péptidos inmovilizados directamente, se realizó la primera ronda de selecciones sobre BSA-péptido y para la segunda ronda, el conjugado OA-péptido. De manera similar, los péptidos TRBC biotinilados se inmovilizaron en estreptavidina

para la ronda 1 y se usó neutravidina para la inmovilización en la ronda 2.

La segunda estrategia fue agotar la biblioteca de fagos de cualquier aglutinante para el compañero de conjugación/inmovilización realizando una 'desactivación' en la ronda 1. Para péptidos directamente inmovilizados, la desactivación se realizó llevando a cabo la etapa de unión fago-péptido en presencia de un exceso molar de 10 veces de BSA libre en solución. En el caso de péptidos biotinilados inmovilizados en estreptavidina, la biblioteca de fagos se incubó previamente con perlas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina. Las perlas se eliminaron antes de la adición del fago a los tubos de antígenos, limitando así los aglutinantes de estreptavidina de entrada en la selección. Las diferentes condiciones de selección utilizadas se resumen en la figura 21. Véase la Tabla 3 para obtener información detallada sobre las condiciones de selección.

El fago policlonal preparado a partir del resultado de la selección de la ronda 2 se probó en ELISA usando diversas presentaciones de los péptidos o las proteínas de soporte. Esto incluía péptidos TRBC directamente inmovilizados como conjugados con BSA u OA o péptidos biotinilados inmovilizados indirectamente en estreptavidina o neutravidina. Las proteínas de control incluidas fueron estreptavidina, neutravidina, BSA y un antígeno irrelevante. La unión a los fagos se detectó usando un anticuerpo anti-M13 de ratón (GE healthcare) seguido de un anticuerpo anti-Fc de ratón marcado con Europio (Perkin Elmers) usando fluorescencia resuelta en el tiempo (Figura 22). Este resultado demostró la unión preferencial de las poblaciones de fagos policlonales al péptido TRBC respectivo (en comparación con el péptido TRBC opuesto). Por ejemplo, el fago policlonal preparado a partir de selecciones de TRBC1 mostró una señal de unión a TRBC1 significativamente mayor que a TRBC2 y viceversa. Hubo una unión limitada o nula a los compañeros de inmovilización o conjugación y al antígeno irrelevante.

Subclonación de anticuerpos de cadena sencilla (scFv) y exploración monoclonal

Las poblaciones de scFv de los resultados de selección de la ronda 2 y ronda 3 se subclonaron en el vector de expresión pSANG10-3F y se transformaron en células E. coli BL21 (DE3). Se recogieron 1128 transformantes individuales (564 clones/péptido TRBC) en placas de cultivo de 12 x 96 pocillos (94 clones/placa) y se indujo la expresión de anticuerpos usando medios de autoinducción. Los anticuerpos monoclonales recombinantes secretados en el sobrenadante del cultivo después de la inducción durante la noche se probaron para la unión a TRBC1 y TRBC2 biotinilados inmovilizados en placas de 96 pocillos Nunc Maxisorp™ recubiertas con neutravidina. De los 564 clones seleccionados de las selecciones TRBC1, se encontró que 255 clones eran específicos para TRBC1 (> 10000 unidades TRF para TRBC1 y <1000 unidades TRF para TRBC2). Se identificaron 138 aglutinantes específicos de TRBC2 (> 10000 unidades TRF para TRBC2 y <2000 unidades TRF para TRBC1) a partir de los 564 clones explorados de las selecciones de TRBC2. La figura 24 muestra un perfil de unión representativo de una única placa de 96 pocillos que surge de la selección en TRBC1 (figura 24A) o TRBC2 (figura 24B). Los detalles de los aglutinantes específicos generados usando diferentes condiciones de selección se resumen en la Tabla 5.

Se recogieron 142 y 138 aglutinantes específicos de las selecciones de TRBC1 y TRBC2 respectivamente para análisis de secuencia y caracterización adicional. Las secuencias de clones seleccionados por cherry se generaron mediante secuenciación de Sanger utilizando el kit de secuenciación de ciclo BigDye® terminator v3.1 (Life technologies). Se analizaron las secuencias de ADN para determinar la secuencia de la proteína y se identificaron las CDR de los dominios VH y VL. El análisis de las regiones CDR3 de VH y VL identificó 74 clones únicos TRBC1 y 42 únicos TRBC2 (donde único se define como cualquier combinación de secuencia de CDR3 de VH y CDR3 de VL). Los clones específicos de TRBC1 y sus secuencias de CDR3 de VH y CDR3 de VL se resumen en la Tabla 1 anterior. Los clones específicos de TRBC2 y sus secuencias de CDR3 de VH y CDR3 de VL se resumen en la Tabla 2 anterior.

Tabla 3A. Detalles de selecciones de TRBC en fase sólida

Selecciones en fase sólida					
Antígeno de selección	Número de rondas	Concentración de antígeno	Inmovilización	Ronda 1 antígenos de desactivación	Ronda 2 antígenos de desactivación
BSA TRBC1 (Ronda 1), OA TRBC1 (Ronda 2)	2	10 µg/ml	Directa	BSA (100 µg/ml), TRBC2 (30 µM)	TRBC2 (30 µM)
BSA TRBC2 (Ronda 1), OA TRBC2 (Ronda 2)	2	10 µg/ml	Directa	BSA (100 µg/ml), TRBC1 (30 µM)	TRBC1 (30 µM)

(continuación)

Selecciones en fase sólida					
Antígeno de selección	Número de rondas	Concentración de antígeno	Inmovilización	Ronda 1 antígenos de desactivación	Ronda 2 antígenos de desactivación
Bio-TRBC1 (Ronda 1 y 2)	2	3 µg/ml	Perlas de estreptavidina (Ronda 1), Neutravidina (Ronda 2)	Perlas de estreptavidina, TRBC2 (30 µg/ml)	Perlas de neutravidina, TRBC2 (30 µg/ml)
Bio-TRBC2 (Ronda 1 y 2)	2	3 µg/ml	Perlas de estreptavidina (Ronda 1), Neutravidina (Ronda 2)	Perlas de estreptavidina, TRBC1 (30 µg/ml)	Perlas de neutravidina, TRBC1 (30 µg/ml)

Tabla 3B. Detalles de selecciones de TRBC en fase de solución

Selecciones en fase de solución					
Antígeno de selección	Número de rondas	Concentración de antígeno	Ronda 1 antígenos de desactivación	Ronda 2 antígenos de desactivación	Ronda 3 antígenos de desactivación
Bio-TRBC1 (Ronda 1,2 y 3)	3	500 nM	Perlas de estreptavidina, TRBC2 (5 µM)	Perlas de estreptavidina, TRBC2 (5 µM)	Perlas de neutravidina, TRBC2 (5 µM)
Bio-TRBC2 (Ronda 1,2 y 3)	3	500 nM	Perlas de estreptavidina, TRBC1 (5 µM)	Perlas de estreptavidina, TRBC1 (5 µM)	Perlas de neutravidina, TRBC1 (5 µM)

5

Tabla 4: Números de los resultados de la selección

Tipo de selección	Número de rondas	Antígeno	Número de unidades formadoras de placas (Ronda 1)	Número de unidades formadoras de placas (Ronda 2)	Número de unidades formadoras de placas (Ronda 3)
Fase sólida	2	BSA/OA TRBC1	$1,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^5$	N.D
Fase sólida	2	BSA/OA TRBC2	$1,5 \times 10^3$	$2,2 \times 10^6$	N.D
Fase sólida	2	Bio-TRBC1	$5,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^5$	N.D
Fase sólida	2	Bio-TRBC2	$3,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	N.D
Fase de solución	3	Bio-TRBC1	$1,5 \times 10^6$	$>10^8$	$>10^8$
Fase de solución	3	Bio-TRBC2	$2,7 \times 10^5$	$>10^8$	$>10^8$

Tabla 5: Detalles de la exploración monoclonal

Número de selección	Tipo de selección	Antígeno de selección	Resultado de selección	Número de clones explorados	Número de aglutinantes específicos
262	Fase sólida, Inmovilización indirecta	TRBC1	Ronda-2	186	93
263	Fase sólida, Inmovilización indirecta	TRBC2	Ronda-2	186	68
264	Fase de solución	TRBC1	Ronda-2	186	83
265	Fase de solución	TRBC2	Ronda-2	186	29
266	Fase de solución	TRBC1	Ronda-3	94	47
267	Fase de solución	TRBC2	Ronda-3	94	33
268	Fase sólida, inmovilización directa (BSA/OA)	TRBC1	Ronda-2	94	32
269	Fase sólida, inmovilización directa (BSA/OA)	TRBC2	Ronda-2	94	9

Ejemplo 13 - Producción de anticuerpos policlonales de TRBC mediante inmunización peptídica de conejos

Para generar anticuerpos que distinguen entre TRBC2 y TRBC1, se sintetizaron 2 péptidos que cubren el área principal de diferenciación entre las dos isoformas de TRBC y se usaron para la inmunización de conejos. Se usaron las siguientes secuencias de péptidos:

TRBC1: VLEDLNKVPPEVAVC (SEQ ID NO: 38)

TRBC2: VLEDLKNVPPEVAVC (SEQ ID NO: 39).

Se sintetizaron 15 mg de péptidos TRBC1 y TRBC2. Se conjugó Hemocianina de Lapa Californiana (KLH por sus siglas en inglés) con péptidos TRBC1 y TRBC2 a través de cisteínas C terminales presentes en los péptidos. Para cada péptido, se inmunizaron 2 conejos New England un total de tres veces con KLH conjugada con péptido TRBC1 o TRBC2. Después de la tercera inmunización, los conejos se sacrificaron y se sangraron, y se recogió el suero para la purificación. El suero bruto obtenido de los conejos se pasó a través de una columna de resina de agarosa con perlas reticuladas acoplado con el péptido utilizado para la inmunización para recoger anticuerpos específicos para los segmentos comunes y el epítipo específico de isoforma TRBC del péptido. El sobrenadante inicialmente purificado se purificó después a través de una columna con el péptido alternativo inmovilizado, para eliminar los anticuerpos específicos de segmentos comunes del péptido.

Configuración de ELISA

Antígenos de recubrimiento:

A: péptido TRBC1

B: péptido TRBC2

Concentración de recubrimiento: 4ug/ml, 100 µl/pocillo

Tampón de recubrimiento: Solución Salina Tamponada con Fosfato, pH7,4

Anticuerpo Secundario: Anti-IgG de CONEJO (H&L) (CABRA) Anticuerpo Peroxidasa Conjugado

Los resultados se muestran en las Figuras 25 y 26. Es posible producir suero policlonal que comprende anticuerpos específicos de TRBC1 o TRBC2 mediante el presente método.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> UCL Business PLC

<120> Método

<130> P104381PCT

<150> GB 1403905.1

<151> 05/03/2014

<150> GB 1416908.0

<151> 25/09/2014

<160> 272

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 124

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Cadena pesada variable (VH) VH de Jovi-1

<400> 1

ES 2 758 173 T3

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

<210> 2
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Cadena ligera variable (VL) VL de Jovi-1

<400> 2

ES 2 758 173 T3

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

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

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 3
<211> 252
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> scFv de Jovi-1

<400> 3

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

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

Val Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Ile Gln Ser Asn Glu Arg Phe
50 55 60

ES 2 758 173 T3

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

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

Ala Arg Gly Ala Gly Tyr Asn Phe Asp Gly Ala Tyr Arg Phe Phe Asp
100 105 110

Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

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

Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr
225 230 235 240

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
245 250

<210> 4

5 <400> 4
000

<210> 5

10 <400> 5
000

<210> 6

15 <400> 6
000

ES 2 758 173 T3

<210> 7
 <211> 7
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Región determinante de complementariedad (CDR) CDR1 de cadena pesada variable (VH)
 10 <400> 7

 Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 1 5

 <210> 8
 15 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> CDR2 de VH

 <400> 8

 Asn Pro Tyr Asn Asp Asp
 1 5

 25 <210> 9
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> CDR3 de VH

 <400> 9
 35
 Gly Ala Gly Tyr Asn Phe Asp Gly Ala Tyr Arg Phe Phe Asp Phe
 1 5 10 15

 <210> 10
 40 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 45 <223> CDR1 de cadena ligera variable (VL)

 <400> 10

 Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

 50 <210> 11
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 55 <220>
 <223> CDR2 de VL

<400> 11

Arg Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> CDR3 de VL

<400> 12

15

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 13
<211> 247
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Fragmento variable de cadena sencilla (scFv) CP_01_E09

25

<400> 13

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Ala His Asn Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

ES 2 758 173 T3

115	120	125
Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser		
130	135	140
Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala		
145	150	155
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly		
165	170	175
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly		
180	185	190
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe		
195	200	205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln		
210	215	220
Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp		
225	230	235
Ile Lys Arg Thr Ala Ala Ala		
245		

<210> 14
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_01_D12

<400> 14

ES 2 758 173 T3

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

ES 2 758 173 T3

<210> 15
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> scFv CP_01_D10

<400> 15

10

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

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		

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

<210> 16

<211> 246

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> scFv CP_01_C08

<400> 16

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

<211> 245
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> scFv CP_01_C11

<400> 17

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Ser Gly Gly Ala Gly Trp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

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

Ala Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro
 130 135 140

Gly Lys Thr Ala Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala
 145 150 155 160

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

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

ES 2 758 173 T3

Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile
195 200 205

Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser His
210 215 220

Asp Ser Ser Asn Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
225 230 235 240

Gly Gln Pro Ala Ala
245

<210> 18
<211> 247
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> scFv CP_01_F03

<220>
<221> misc_feature
<222> (101)..(101)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 18

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

ES 2 758 173 T3

Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
 130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Arg Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala
 145 150 155 160

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
 180 185 190

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe
 195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
 210 215 220

Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
 225 230 235 240

Ile Lys Arg Thr Ala Ala Ala
 245

<210> 19
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_01_E07

<400> 19

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

ES 2 758 173 T3

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

<210> 20
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_01_D03

<400> 20

ES 2 758 173 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Pro Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

ES 2 758 173 T3

35	40	45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Arg Asn Lys Gln Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
	100	105
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
	115	120
Gly Gly Ala Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser		
	130	135
Leu Ala Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser		
145	150	155
Val Gly Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro		
	165	170
Ser Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala		
	180	185
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser		
	195	200
Ser Leu Gln Ser Glu Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His		
	210	215
Arg Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg		
225	230	235
Thr Ala Ala Ala		

<210> 21
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_01_F06

<400> 21

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

245

5 <210> 22
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> scFv CP_01_F02

 <400> 22

ES 2 758 173 T3

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

<210> 23
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> scFv CP_03_E05

10

<400> 23

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

ES 2 758 173 T3

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

Ser Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Thr Ser Ser Asn Ser Ala Ser
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Arg Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

His Ser Tyr Asp Ser Asn Asn His Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala
245

<210> 24
<211> 246
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> scFv CP_03_D05

<400> 24

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Ser Pro Arg Gly Arg Gly Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

ES 2 758 173 T3

```

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115                      120                      125

Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
 130                      135                      140

Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Ser Gly Asp Gln
145                      150                      155                      160

Leu Gly Gly Lys Tyr Gly His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ser
      165                      170                      175

Pro Val Leu Val Leu Tyr Gln Asp Arg Lys Arg Pro Ala Gly Ile Pro
      180                      185                      190

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ile Thr Leu Thr Ile
 195                      200                      205

Ser Gly Thr Gln Ala Val Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp
 210                      215                      220

Asp Thr Asn Leu Gly Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val
225                      230                      235                      240

Leu Gly Gln Pro Ala Ala
      245

```

<210> 25
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_03_H06

<400> 25

ES 2 758 173 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

ES 2 758 173 T3

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

<210> 26
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_03_C12

<400> 26

ES 2 758 173 T3

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

<210> 27
<211> 249
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

5

<220>
<223> scFv CP_03_G02

10

<400> 27

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

ES 2 758 173 T3

<210> 28
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_03_D04

<400> 28

```

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20          25          30

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

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50          55          60

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

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

Ala Arg Gly Gly Phe Thr Val Pro Gly Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100         105         110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115         120         125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His
130         135         140

Ser Val Ser Asp Ser Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg
145         150         155         160

Ser Ser Gly Arg Ile Gly Ser Asn Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg
165         170         175

Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asp Gln Arg Pro
180         185         190
  
```

Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn
195 200 205

Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Thr Thr Ala Asp Glu Ala Gly
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Asn Val Ile Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala
245 250

<210> 29

<211> 247

<212> PRT

<213> Sequencia Artificial

<220>

<223> scFv CP_03_F10

<400> 29

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

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Phe Gly Glu Arg Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ala Ser Gln Ser Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser
130 135 140

Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr
145 150 155 160

Asp Val Gly Ala Phe His Phe Val Ser Trp Tyr Gln His Thr Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser Glu Val Arg Lys Arg Ala Ser Gly
180 185 190

Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu
195 200 205

Thr Val Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser
210 215 220

Ala Tyr Thr Gly Ser Asn Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr
225 230 235 240

Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala
245

<210> 30
<211> 252
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> scFv CP_03_G09

<400> 30

ES 2 758 173 T3

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Trp Leu Ala Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

ES 2 758 173 T3

	100		105		110											
Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	
	115						120					125				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Ser	Tyr	Glu	
	130						135				140					
Leu	Thr	Gln	Pro	Leu	Ser	Val	Ser	Val	Ala	Leu	Gly	Gln	Thr	Ala	Arg	
145					150					155					160	
Ile	Thr	Cys	Gly	Gly	Asn	Asn	Ile	Gly	Ser	Lys	Asn	Val	His	Trp	Tyr	
				165					170					175		
Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr	Arg	Asp	Asn	
			180					185					190			
Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Glu	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Asn	Ser	Gly	
		195					200					205				
Asn	Thr	Ala	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Gln	Ala	Gly	Asp	Glu	Ala	
	210					215					220					
Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Val	Trp	Asp	Ser	Asn	Ser	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	
225					230					235					240	
Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln	Pro	Ala	Ala					
				245					250							

<210> 31
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> scFv CP_03_F09

<400> 31

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

ES 2 758 173 T3

<210> 32
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> scFv CP_03_D09

10

<400> 32

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

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

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Receptor quimérico de antígeno (CAR), CAR de JOVI-1 con espaciador de tallo de CD8

<400> 33

ES 2 758 173 T3

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

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

ES 2 758 173 T3

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
485 490 495

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
500 505 510

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
515 520 525

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
530 535

<210> 34

<211> 727

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> CAR de JOVI-1 con espaciador H-CH2-CH3pvaa

<400> 34

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

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

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

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

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

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

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

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ala Gly Tyr Asn Phe Asp Gly Ala Tyr
115 120 125

Arg Phe Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
130 135 140

ES 2 758 173 T3

Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp
145					150					155					160
Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Gly	Asp
				165					170					175	
Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Arg	Leu	Val	His	Ser	Asn
			180					185					190		
Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro
		195					200					205			
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Pro	Gly	Val	Pro	Asp
210						215					220				
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser
225					230					235					240
Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser	Thr
				245					250					255	
His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg
			260					265					270		
Ser	Asp	Pro	Ala	Glu	Pro	Lys	Ser	Pro	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
		275					280					285			
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
	290					295					300				
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
305					310					315					320
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
				325					330					335	
Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
			340					345					350		
Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
		355					360					365			
Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
	370					375					380				
Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys
385					390					395					400

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
405 410 415

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
420 425 430

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
435 440 445

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
450 455 460

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
465 470 475 480

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
485 490 495

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe
500 505 510

Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu
515 520 525

Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg
530 535 540

Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro
545 550 555 560

Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala
565 570 575

Tyr Arg Ser Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro
580 585 590

Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala
595 600 605

His Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
610 615 620

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
625 630 635 640

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg

645										650					655				
Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly				
			660					665					670						
Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu				
		675					680					685							
Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu				
	690					695					700								
Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His				
705					710					715					720				
Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg													
				725															

<210> 35

<211> 511

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> CAR de JOVI-1 con espaciador de bisagra de IgG1

<400> 35

ES 2 758 173 T3

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

ES 2 758 173 T3

Arg	Phe	Phe	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	130	135	140
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	145	150	155
Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Gly	Asp	165	170	175
Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Arg	Leu	Val	His	Ser	Asn	180	185	190
Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	195	200	205
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Pro	Gly	Val	Pro	Asp	210	215	220
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	225	230	235
Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser	Thr	245	250	255
His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	260	265	270
Ser	Asp	Pro	Ala	Glu	Pro	Lys	Ser	Pro	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	275	280	285
Pro	Cys	Pro	Lys	Asp	Pro	Lys	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	290	295	300
Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	305	310	315
Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	325	330	335
Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	340	345	350
Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser	Arg	Asp	Gln	Arg	Leu	355	360	365
Pro	Pro	Asp	Ala	His	Lys	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Arg	Thr	Pro			

370

375

380

Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg
385 390 395 400

Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
405 410 415

Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
420 425 430

Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
435 440 445

Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
450 455 460

Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
465 470 475 480

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

Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505 510

<210> 36

<211> 15

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Péptido sintético para TRBC2

<400> 36

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

15 <210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<223> Péptido sintético para TRBC1

<400> 37

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

25

<210> 38
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Péptido sintético para TRBC1
 10
 <400> 38
 Val Leu Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Cys
 1 5 10 15
 <210> 39
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Péptido sintético para TRBC2
 20
 <400> 39
 Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Cys
 1 5 10 15
 <210> 40
 <211> 175
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 40
 30
 Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser
 1 5 10 15
 Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala
 20 25 30
 Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly
 35 40 45
 Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu
 50 55 60
 Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg
 65 70 75 80
 Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln
 85 90 95
 Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg
 100 105 110

ES 2 758 173 T3

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

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

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

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

<210> 41

<211> 175

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

5

ES 2 758 173 T3

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```

<210> 42

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Clon CP_01_E09 de CDR3 de Pesada

<400> 42

```

Ala His Asn Ser Ser Ser Trp Ser Phe
1           5

```

15

<210> 43

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20

<220>

<223> Clon CP_01_D12 de CDR3 de Pesada

<400> 43

Gly Gly Asp Thr Tyr Gly Phe Leu
1 5

5

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_01_D10 de CDR3 de Pesada

15 <400> 44

Gly Gly Gly Ser Phe Gly Ala Phe
1 5

20

<210> 45

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Clon CP_01_C08 de CDR3 de Pesada

<400> 45

Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Leu
1 5

30

<210> 46

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35

<220>

<223> Clon CP_01_C11 de CDR3 de Pesada

<400> 46

40

Gly Gly Ala Gly
1

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

45

<220>

<223> Clon CP_01_F03 de CDR3 de Pesada

50

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

55

<400> 47

Gly Tyr Xaa Ala Ser Ser Trp Ser Gln
1 5

5 <210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Clon CP_01_E07 de CDR3 de Pesada

<400> 48

Asp Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ala Phe
1 5

15 <210> 49
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Clon CP_01_D03 de CDR3 de Pesada

<400> 49

25 Asn Lys Gln Tyr Gly Met
1 5

30 <210> 50
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Clon CP_01_F06 de CDR3 de Pesada

<400> 50

Asp Asp Gly Ala Met
1 5

40 <210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Clon CP_01_F02 de CDR3 de Pesada

<400> 51

Ala Gly Tyr Ser Tyr Ala
1 5

50 <210> 52
<211> 9
<212> PRT
55 <213> Secuencia Artificial

ES 2 758 173 T3

<223> Clon CP_02_C03 de CDR3 de Pesada

<400> 52

Gly Gly Arg Tyr Ser Ser Asn Tyr Phe
1 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<223> Clon CP 02 D10 de CDR3 de Pesada

<400> 53

Val Gly Glu Gly Ser Ala Met
1 5

<211> 15

<212> PRT

<213> Secu

Val Ser Ser His Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ala Gly Gly Phe

15

<211> 9

<212> PRT

<213> Secu

REFERENCES

Gly Arg Asp Ser Ser Ser Trp Ser Pro
1 5

<211> 9

<212> PRT

<213> Secu

Val Thr Thr Tyr Ser Gly Leu Asp Phe
1 5

5 <210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Clon CP_02_D04 de CDR3 de Pesada
 <400> 57

Lys Gly Ala Val Val Val Pro Gly Ala Leu
1 5 10

15 <210> 58
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Clon CP_01_E10 de CDR3 de Pesada
 <400> 58

Asn Ser Leu Tyr Gly Gly Asn Ser Ala
1 5

25 <210> 59
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Clon CP_01_H08 de CDR3 de Pesada
 35 <400> 59

Asp Gly Gly Gly Gly Arg Phe
1 5

40 <210> 60
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> Clon CP_01_F11 de CDR3 de Pesada
 <400> 60

Gly Gly Gly Ala Leu Gly Arg Gly Met
1 5

50 <210> 61
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55

<223> Clon CP_01_F09 de CDR3 de Pesada

<400> 61

5

Leu Leu Arg Ser Gly Gly Gln Ser Tyr Ala Phe
1 5 10

$\langle 211 \rangle$ 8

10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<223> Clon CP 02 D05 de CDR3 de Pesada

15

<400> 62

Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Phe
1 5

20

<210> 63

 $\langle 211 \rangle$ 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25

<220>

<223> Clon CP 02 A09 de CDR3 de Pesada

<400> 63

Ala Gly Ser Ser Gly Trp Thr Leu

30

1

5

<210> 64

$\langle 211 \rangle$ 6

<212> PRT

35

<213> Secuencia Artificial

<223> Clon CP 02 D03 de CDR3 de Pesada

40

<400> 64

Asp Lys Gly Trp Gly Phe
1 5

45

<210> 65

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<223> Clon CP_02_C11 de CDR3 de Pesada

50

<400> 65

Leu Gly Val Val Arg Gly Val Met Lys Gly Phe
1 5 10

	<210> 66	
	<211> 9	
	<212> PRT	
5	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	Clon CP_01_H10 de CDR3 de Pesada
10	<400>	66
	Ser Ser Tyr Ser Ser Ser Trp Gly Met	
	1	5
	<210> 67	
15	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
20	<223>	Clon CP_02_C04 de CDR3 de Pesada
	<400>	67
	Ala Asn Ser Trp Ser Ala Gly Gly Met	
	1	5
25	<210> 68	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213>	Secuencia Artificial
30	<220>	
	<223>	Clon CP_01_G03 de CDR3 de Pesada
	<400>	68
35		
	Glu Arg Gly Arg Gly Tyr Ser Tyr Met	
	1	5
	<210> 69	
	<211> 9	
40	<212> PRT	
	<213>	Secuencia Artificial
	<220>	
	<223>	Clon CP_01_G06 de CDR3 de Pesada
45	<400>	69
	Val Ala Arg Gly Ile His Asp Ala Phe	
	1	5
50	<210> 70	
	<211> 4	
	<212> PRT	
	<213>	Secuencia Artificial
55	<220>	
	<223>	Clon CP_01_D06 de CDR3 de Pesada

<400> 70

Arg His Gly Met
1

5 <210> 71
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Clon CP_02_B03 de CDR3 de Pesada

<400> 71

Phe Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
1 5

15 <210> 72
<211> 8
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_02_A12 de CDR3 de Pesada

25 <400> 72

Asp Leu Val Thr Thr Gly Ala Phe

1 5

30 <210> 73
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Clon CP_01_H03 de CDR3 de Pesada

<400> 73

Ala Ile Arg Val Ser Gly Thr Pro Glu Asn Gly Phe
1 5 10

40 <210> 74
<211> 7
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_G08 de CDR3 de Pesada

<400> 74

50 Val Arg Ile Thr His Gly Met
1 5

<210> 75

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Clon CP_01_A06 de CDR3 de Pesada

<400> 75

Gly Lys Leu Ala Phe
 1 5

10

<210> 76
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Clon CP_02_A04 de CDR3 de Pesada

20

<400> 76

Asn Gly Asp Ser Ser Gly Tyr His Thr Ser Pro Asn Trp Tyr Phe
 1 5 10 15

25

<210> 77
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30

<220>
 <223> Clon CP_01_E08 de CDR3 de Pesada

<400> 77

Val Ser Thr Asp Ser Ser Ser Met
 1 5

35

<210> 78
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Clon CP_01_A08 de CDR3 de Pesada

<400> 78

45

Thr Ser Gln Asp Pro Gly Ala Phe
 1 5

50

<210> 79
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55

<220>
 <223> Clon CP_01_D01 de CDR3 de Pesada

<400> 79

Ala Glu Ser Gly Val Tyr Ser Ser Asn Gly Met
1 5 10

5 <210> 80
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_02_A07 de CDR3 de Pesada
 10 <400> 80

Val Asp Arg Val Arg Ser Gly Met
1 5

15 <210> 81
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Clon CP_02_B08 de CDR3 de Pesada
 <400> 81

Ile Gly Gln Tyr Cys Ser Ser Thr Ser Cys Tyr Met

25 **1 5 10**
 <210> 82
 <211> 9
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_01_D09 de CDR3 de Pesada
 35 <400> 82

Asp Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ala Phe
1 5

40 <210> 83
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> Clon CP_01_G07 de CDR3 de Pesada
 <400> 83

Asp Ser Asp Ala Gly Tyr Phe
1 5

50 <210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_A05 de CDR3 de Pesada

5 <400> 84

Ala Ser Ile Val Ala Ser Gly Ala Phe
1 5

10 <210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Clon CP_02_A08 de CDR3 de Pesada

<400> 85

Ala Gly Gly Ser Asn Ala Phe
1 5

20 <210> 86
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Clon CP_02_D07 de CDR3 de Pesada

<400> 86

30 Val Ser Thr Asp Ser Tyr Gly Arg Gln Asn Trp Phe
1 5 10

35 <210> 87
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Clon CP_01_C04 de CDR3 de Pesada

<400> 87

Gln Tyr Thr Ser Gly Arg Leu Ala Tyr Tyr Tyr His Tyr Met
1 5 10

45 <210> 88
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Clon CP_01_A07 de CDR3 de Pesada

<400> 88

Gly Ile Arg Gly Ala Phe
1 5

55

<210> 89
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Clon CP_01_H02 de CDR3 de Pesada
 <400> 89
 10
 Val Gly Tyr Ser Thr Thr Gln Leu
 1 5
 <210> 90
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Clon CP_01_F10 de CDR3 de Pesada
 20
 <400> 90
 Met Ala Gly Ser Tyr Tyr Ala Phe
 1 5
 25
 <210> 91
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Clon CP_02_C10 de CDR3 de Pesada
 <400> 91
 Val Gly Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Leu Asp Trp Tyr Phe
 1 5 10 15
 35
 <210> 92
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Clon CP_02_B05 de CDR3 de Pesada
 45
 <400> 92
 Gly Ser Asp Thr Thr Ser Phe Val Ser
 1 5
 50
 <210> 93
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Clon CP_01_G04 de CDR3 de Pesada

<400> 93

Ala Gly His Tyr Tyr Tyr Tyr Met
1 5

5

<210> 94
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> Clon CP_01_F08 de CDR3 de Pesada

<400> 94

15

Val Thr Gly Tyr Pro Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Phe
1 5 10

<210> 95
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Clon CP_01_G05 de CDR3 de Pesada

25

<400> 95

Val Glu Gly Gly Pro Pro Tyr Tyr Phe
1 5

30

<210> 96
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Clon CP_02_A03 de CDR3 de Pesada

<400> 96

Asn Gly Leu Asp Asn Tyr Gly Met
1 5

40

<210> 97
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> Clon CP_01_B09 de CDR3 de Pesada

50

<400> 97

Leu Gly Thr Thr Lys Arg Ala Phe
1 5

55

<210> 98
<211> 8

Asn Trp Leu Leu Tyr Tyr Gly Asp Pro Gln Gln Asn Ala Phe
1 5 10

5 <210> 103
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_H01 de CDR3 de Pesada
10
<400> 103

Leu Tyr Phe Asp Trp Phe Ala Asp Ser Gln Asn Ala Phe
1 5 10

15 <210> 104
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Clon CP_01_G10 de CDR3 de Pesada

<400> 104

Val Gly Tyr Gln Pro Leu Leu Tyr Ala Asp Tyr Tyr Phe
1 5 10

25 <210> 105
<211> 5
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_G11 de CDR3 de Pesada

35 <400> 105

Gly Ala Met Gly Leu
1 5

40 <210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Clon CP_01_G01 de CDR3 de Pesada

<400> 106

Val Tyr Tyr Leu Ser Gly Val His Ala Phe
1 5 10

50 <210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>

ES 2 758 173 T3

<223> Clon CP_01_A12 de CDR3 de Pesada

<400> 107

5 Thr Glu Arg Trp Leu Gln Phe
1 5

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_01_H05 de CDR3 de Pesada

15 <400> 108

Asn Gly Asp Tyr Ala Phe

1

5

<210> 109

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Clon CP_02_B07 de CDR3 de Pesada

<400> 109

Ala Ser Arg Tyr Ser Gly Ser Tyr His Phe
1 5 10

30 <210> 110

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35

<220>

<223> Clon CP_01_G09 de CDR3 de Pesada

<400> 110

40

His Gly Ser Gln Gly Gly Phe
1 5

<210> 111

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

45

<220>

<223> Clon CP_02_C02 de CDR3 de Pesada

50

<400> 111

Val Gly Tyr Met Gly Gly Met
1 5

ES 2 758 173 T3

<210> 112
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Clon CP_01_D05 de CDR3 de Pesada
 <400> 112
 10
 Asn Thr Pro Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro
 1 5 10
 <210> 113
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Clon CP_01_D08 de CDR3 de Pesada
 20
 <400> 113
 Val Gly Thr Thr Thr Val Thr Ser Phe
 1 5
 25
 <210> 114
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Clon CP_02_A11 de CDR3 de Pesada
 <400> 114
 Val Gly Gly Pro Leu Asn Asp Ala Phe
 1 5
 35
 <210> 115
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Clon CP_02_D08 de CDR3 de Pesada
 45
 <400> 115
 His Ser Ser Gly Gly Ala Phe
 1 5
 50
 <210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Clon CP_01_E09 de CDR3 de Ligera
 <400> 116

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
1 5

5 <210> 117
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Clon CP_01_D12 de CDR3 de Ligera

<400> 117

Gln Gln Phe Asn Ala Tyr Pro

1 5

15 <210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Clon CP_01_D10 de CDR3 de Ligera

<400> 118

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro
1 5

25 <210> 119
<211> 7
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_C08 de CDR3 de Ligera

35 <400> 119

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
1 5

40 <210> 120
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Clon CP_01_C11 de CDR3 de Ligera

<400> 120

Gln Ser His Asp Ser Ser Asn
1 5

50 <210> 121
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Clon CP_01_F03 de CDR3 de Ligera

5 <400> 121

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
 1 5

10 <210> 122
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Clon CP_01_E07 de CDR3 de Ligera

<400> 122

Met Gln Ser Ile Gln Leu
 1 5

20 <210> 123
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Clon CP_01_D03 de CDR3 de Ligera

<400> 123

30 <210> 124
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Clon CP_01_F06 de CDR3 de Ligera

40 <400> 124

Gln Gln Tyr Tyr Asp Ser Pro
 1 5

45 <210> 125
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Clon CP_01_F02 de CDR3 de Ligera

<400> 125

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro
 1 5

55

ES 2 758 173 T3

<210> 126
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Clon CP_02_C03 de CDR3 de Ligera
 <400> 126
 10
 Gln Gln Tyr Phe Gly Thr
 1 5
 <210> 127
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Clon CP_02_D10 de CDR3 de Ligera
 20
 <400> 127
 Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro
 1 5
 25
 <210> 128
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Clon CP_02_B01 de CDR3 de Ligera
 <400> 128
 Gln Ser Phe Asp Thr Asn Ser Leu
 1 5
 35
 <210> 129
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Clon CP_02_D02 de CDR3 de Ligera
 45
 <400> 129
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
 1 5
 50
 <210> 130
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Clon CP_02_A02 de CDR3 de Ligera

5 <400> 130

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr
 1 5

10 <210> 131
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Clon CP_02_D04 de CDR3 de Ligera

<400> 131

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro
 1 5

20 <210> 132
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Clon CP_01_E10 de CDR3 de Ligera

<400> 132

Gln Gln Thr Phe Thr Thr Pro
 1 5

30 <210> 133
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Clon CP_01_H08 de CDR3 de Ligera

40 <400> 133

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
 1 5

45 <210> 134
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Clon CP_01_F11 de CDR3 de Ligera

<400> 134

Gln Ser Tyr Asp Thr Asn Asn
 1 5

55 <210> 135
 <211> 7

		Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn
		1 5
5	<210> 140	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
10	<220>	
	<223> Clon CP_01_H10 de CDR3 de Ligera	
	<400> 140	
15		Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
		1 5
	<210> 141	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
20	<220>	
	<223> Clon CP_02_C04 de CDR3 de Ligera	
	<400> 141	
25		Gln Gln Tyr Asp Asp Leu Pro
		1 5
	<210> 142	
	<211> 7	
30	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Clon CP_01_G03 de CDR3 de Ligera	
35	<400> 142	
		Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro
		1 5
40	<210> 143	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
45	<220>	
	<223> Clon CP_01_G06 de CDR3 de Ligera	
	<400> 143	
50		Gln Ser Tyr Asp Asn Thr Arg His
		1 5
	<210> 144	
	<211> 7	
	<212> PRT	
55	<213> Secuencia Artificial	

<220>

<223> Clon CP_01_D06 de CDR3 de Ligera

<400> 144

5

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn

1

5

<210> 145

<211> 7

10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_02_B03 de CDR3 de Ligera

15

<400> 145

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn

1

5

20

<210> 146

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25

<220>

<223> Clon CP_02_A12 de CDR3 de Ligera

<400> 146

Gln Gln His Asn Asp Trp Pro

1

5

30

<210> 147

<211> 8

<212> PRT

35

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_01_H03 de CDR3 de Ligera

40

<400> 147

Gln Ser Tyr His Ser Ser Asn Leu

1

5

45

<210> 148

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

50

<223> Clon CP_01_G08 de CDR3 de Ligera

<400> 148

Met Gln Ala Thr His Phe Pro

1

5

5 <210> 149
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_01_A06 de CDR3 de Ligera

 10 <400> 149

 Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro
 1 5

 15 <210> 150
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Clon CP_02_A04 de CDR3 de Ligera

 <400> 150

 Gln Ser Tyr Asp Asp Ser Asn Tyr
 1 5

 25 <210> 151
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 30 <220>
 <223> Clon CP_01_E08 de CDR3 de Ligera

 <400> 151

 35 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Thr Leu
 1 5

 40 <210> 152
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_01_A08 de CDR3 de Ligera

 45 <400> 152

 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro
 1 5

 50 <210> 153
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 55 <220>
 <223> Clon CP_01_D01 de CDR3 de Ligera

 <400> 153

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ile

1

5

5 <210> 154
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Clon CP_02_A07 de CDR3 de Ligera

<400> 154

Gln Ser Tyr Asp Ser Ile His

1

5

15 <210> 155
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
20 <220>
<223> Clon CP_02_B08 de CDR3 de Ligera

25 <400> 155

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr His

1

5

30 <210> 156
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Clon CP_01_D09 de CDR3 de Ligera

<400> 156

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro

1

5

40 <210> 157
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial
45 <220>
<223> Clon CP_01_G07 de CDR3 de Ligera

<400> 157

Gln Ser Phe Thr Ser Ser Thr Leu

1

5

50 <210> 158
<211> 7
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_01_A05 de CDR3 de Ligera

5 <400> 158

Gln Gln Tyr Asn Lys Trp Pro
1 5

10 <210> 159
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Clon CP_02_A08 de CDR3 de Ligera

<400> 159

Gln Ser Tyr Asp Asp Ser Asn Tyr
1 5

20 <210> 160
<211> 8
<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_02_D07 de CDR3 de Ligera

30 <400> 160

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His
1 5

35 <210> 161
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_C04 de CDR3 de Ligera

40 <400> 161

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
1 5

45 <210> 162
<211> 10
<212> PRT

50 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_A07 de CDR3 de Ligera

55 <400> 162

Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro Asn

1 5 10

5 <210> 163
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Clon CP_01_H02 de CDR3 de Ligera

<400> 163

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Leu
1 5

15 <210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Clon CP_01_F10 de CDR3 de Ligera

<400> 164

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His
1 5

25 <210> 165
<211> 9
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_02_C10 de CDR3 de Ligera

35 <400> 165

Ala Val Trp Asp Asp Arg Leu Asn Gly
1 5

40 <210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Clon CP_02_B05 de CDR3 de Ligera

<400> 166

Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Ser
1 5

50 <210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Clon CP_01_G04 de CDR3 de Ligera

5 <400> 167

Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Asn
 1 5

10 <210> 168
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Clon CP_01_F08 de CDR3 de Ligera

<400> 168

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His
 1 5

20 <210> 169
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Clon CP_01_G05 de CDR3 de Ligera

<400> 169

30 <210> 170
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Clon CP_02_A03 de CDR3 de Ligera

40 <400> 170

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro
 1 5

45 <210> 171
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Clon CP_01_B09 de CDR3 de Ligera

<400> 171

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr

1

5

<210> 172
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_A10 de CDR3 de Ligera

<400> 172

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Phe
1 5

<210> 173
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_H04 de CDR3 de Ligera

<400> 173

Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro
1 5

<210> 174
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_02_B04 de CDR3 de Ligera

<400> 174

Gln Gln Tyr Tyr Asn Thr Pro
1 5

<210> 175
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_02_A05 de CDR3 de Ligera

<400> 175

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ile
1 5

<210> 176
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_F07 de CDR3 de Ligera

5 <400> 176

Gln Ser Tyr Asp Ser Thr Asn Leu
1 5

10 <210> 177
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Clon CP_01_H01 de CDR3 de Ligera
<400> 177

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
1 5

20 <210> 178
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Clon CP_01_G10 de CDR3 de Ligera
<400> 178

30 Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
1 5

35 <210> 179
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Clon CP_01_G11 de CDR3 de Ligera
<400> 179

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
1 5

45 <210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Clon CP_01_G01 de CDR3 de Ligera

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 180

Asp Ser Arg Asp Thr Arg Val Asn Xaa
1 5

5 <210> 181
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Clon CP_01_A12 de CDR3 de Ligera

<400> 181

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu
1 5

15 <210> 182
<211> 7
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_01_H05 de CDR3 de Ligera

25 <400> 182

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro
1 5

30 <210> 183
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
35 <223> Clon CP_02_B07 de CDR3 de Ligera

<400> 183

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn
1 5

40 <210> 184
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Clon CP_01_G09 de CDR3 de Ligera

50 <400> 184

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr
1 5

55 <210> 185
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Clon CP_02_C02 de CDR3 de Ligera
 <400> 185
 5
 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Pro
 1 5
 <210> 186
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_01_D05 de CDR3 de Ligera
 15 <400> 186
 Gln Ser Tyr Asp Ser Thr Asn His
 1 5
 20 <210> 187
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Clon CP_01_D08 de CDR3 de Ligera
 <400> 187
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ala Asn Leu
 1 5
 30 <210> 188
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_02_A11 de CDR3 de Ligera
 40 <400> 188
 Gln Ser Phe Asp Glu Asn Ile Ser
 1 5
 45 <210> 189
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 50 <223> Clon CP_02_D08 de CDR3 de Ligera
 <400> 189
 His Gln Ser Ala Thr Ser Pro
 1 5
 55 <210> 190
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_03_E05 de CDR3 de Pesada
 5
 <400> 190

 Thr Arg Ser Ser Gly Ala Phe
 1 5
 10
 <210> 191
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Clon CP_03_D05 de CDR3 de Pesada
 <400> 191

 Pro Arg Gly Arg Gly Ser Ala Phe
 1 5
 20
 <210> 192
 <211> 6
 <212> PRT
 25
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_03_H06 de CDR3 de Pesada
 30
 <400> 192

 Ala Arg Val Gly Gly Met
 1 5
 35
 <210> 193
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40
 <223> Clon CP_03_C12 de CDR3 de Pesada
 <400> 193

 Asp Thr Gly Pro Ile
 1 5
 45
 <210> 194
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Clon CP_03_G02 de CDR3 de Pesada
 <400> 194
 55
 Gly Val Trp Asn Ser Gly Ser Tyr Leu Gly Phe
 1 5 10

<210> 195
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Clon CP_03_D04 de CDR3 de Pesada
 <400> 195
 10
 Gly Gly Phe Thr Val Pro Gly Gly Ala Phe
 1 5 10
 <210> 196
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Clon CP_03_F10 de CDR3 de Pesada
 20
 <400> 196
 Phe Gly Glu Arg Tyr Ala Phe
 1 5
 25
 <210> 197
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Clon CP_03_G09 de CDR3 de Pesada
 <400> 197
 Asp Gln Trp Leu Ala Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1 5 10
 35
 <210> 198
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Clon CP_03_F09 de CDR3 de Pesada
 <400> 198
 Asn Arg Gly Gly Ser Tyr Lys Ser Val Gly Met
 1 5 10
 45
 <210> 199
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Clon CP_03_D09 de CDR3 de Pesada
 55
 <400> 199

		Val Ser Ser Tyr Tyr Gly Met
		1 5
5	<210> 200	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> Clon CP_03_F02 de CDR3 de Pesada	
	<400> 200	
		Ala Pro Ala Ser Ser Ala His
		1 5
15	<210> 201	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
20	<223> Clon CP_02_E03 de CDR3 de Pesada	
	<400> 201	
		Gln Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
25		1 5
	<210> 202	
	<211> 8	
	<212> PRT	
30	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Clon CP_03_H07 de CDR3 de Pesada	
35	<400> 202	
		Ser Ser Val Ala Ala Gly Ala Phe
		1 5
40	<210> 203	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
45	<223> Clon CP_03_C02 de CDR3 de Pesada	
	<400> 203	
		Leu Ser Gly Arg Gly Leu Gly Phe
		1 5
50	<210> 204	
	<211> 4	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
55	<220>	
	<223> Clon CP_03_E09 de CDR3 de Pesada	

<400> 204

Asp His Tyr Phe
1

5

<210> 205
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> Clon CP_03_D08 de CDR3 de Pesada

<400> 205

15

Ser Gly Arg Arg Val Thr Ala Ile
1 5

<210> 206
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Clon CP_03_E11 de CDR3 de Pesada

25

<400> 206

Met Gly Arg Tyr Ser Ser Ser Trp
1 5

30

<210> 207
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Clon CP_03_B05 de CDR3 de Pesada

<400> 207

His Ser Arg Phe Gly Pro Ala Phe
1 5

40

<210> 208
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> Clon CP_03_H02 de CDR3 de Pesada

50

<400> 208

Asp Arg Glu Ala Phe
1 5

<210> 209
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>

<223> Clon CP 03 D02 de CDR3 de Pesada

5 <400> 209

Leu Arg Gly Arg Tyr Ser Tyr Gly Tyr Ser Asp Ala Phe
1 5 10

<210> 210

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Clon CP 03 E01 de CDR3 de Pesada

<400> 210

Leu Leu Asn Ala Val Thr Tyr Ala Phe
1 5

20

<210> 211

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP 03 C11 de CDR3 de Pesada

<400> 211

30

Ile Gly Val Ile Gly Gly Phe
1 5

<210> 212

$\langle 211 \rangle$ 10

35 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP 03 B12 de CDR3 de Pesada

40

Ile Glu Tyr Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Phe
1 5 10

45 <210> 213

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

50 <220>

<223> Clon CP 03 E03 de CDR3 de Pesada

<400> 213

Asp Leu Leu Pro Thr Thr Val Thr Thr Thr Gly Ala Phe
1 5 10

55

<210> 214

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Clon CP_03_F01 de CDR3 de Pesada
 <400> 214

10

Asp Ser Gly Ser Tyr Ser
 1 5

<210> 215
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Clon CP_03_C01 de CDR3 de Pesada

20

<400> 215

Ala Ser Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1 5 10

25

<210> 216
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30

<220>
 <223> Clon CP_03_G07 de CDR3 de Pesada
 <400> 216

35

Ala Leu Gly His Phe
 1 5

<210> 217
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Clon CP_03_E02 de CDR3 de Pesada
 <400> 217

45

Phe Thr Thr Gly Ser Ala Leu
 1 5

50

<210> 218
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55

<220>
 <223> Clon CP_03_C07 de CDR3 de Pesada
 <400> 218

		Asp Ala Ser Gly Tyr
		1 5
5	<210> 219	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> Clon CP_03_H04 de CDR3 de Pesada	
	<400> 219	
		Asp Leu Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Asp
		1 5 10
15	<210> 220	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
20	<220>	
	<223> Clon CP_03_E06 de CDR3 de Pesada	
	<400> 220	
		Val Gly Glu Leu Leu Gly Ala Phe
25		1 5
	<210> 221	
	<211> 8	
	<212> PRT	
30	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Clon CP_03_E05 de CDR3 de Ligera	
35	<400> 221	
		His Ser Tyr Asp Ser Asn Asn His
		1 5
40	<210> 222	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
45	<223> Clon CP_03_G11 de CDR3 de Pesada	
	<400> 222	
		His Ser Gly Val Gly Gly Leu Ala Phe
		1 5
50	<210> 223	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
55	<220>	

<223> Clon CP_03_G01 de CDR3 de Pesada

<400> 223

Gly Gly Ser Ile Ala Ala Ala Leu Ala Phe
1 5 10

5

<210> 224

<211> 8

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_03_H01 de CDR3 de Pesada

15 <400> 224

Val Glu Tyr Ser Arg Asn Gly Met
1 5

20

<210> 225

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Clon CP_03_F11 de CDR3 de Pesada

<400> 225

Gly Arg Tyr Asn
1

30

<210> 226

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35

<220>

<223> Clon CP_03_C06 de CDR3 de Pesada

<400> 226

40

Leu Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5

<210> 227

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

45

<220>

<223> Clon CP_03_D03 de CDR3 de Pesada

50

<400> 227

Gly Gly Leu Ser Ser Ala Phe
1 5

55

<210> 228

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Clon CP 03 G05 de CDR3 de Pesada

<400> 228

Tyr Gly Gly Gly Leu
1 5

10

<210> 229

 $\langle 211 \rangle$ 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Clon CP 03 G12 de CDR3 de Pesada

<400> 229

20

Pro Asp His Leu Thr Val Phe
1 5

<210> 230

 $\langle 211 \rangle$ 6

25

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP 03 C10 de CDR3 de Pesada

<400> 230

Val Gly Tyr Tyr Gly Met
1 5

35

<210> 231

 $\langle 211 \rangle$ 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

40

<220>

<223> Clon CP 03 F04 de CDR3 de Pesada

<400> 231

Tyr Glu Gly Tyr Ala Gly Phe
1 5

45

<210> 232

<211> 8

<212> PRT

50

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_03_D05 de CDR3 de Ligera

55

<400> 232

Gln Ala Trp Asp Thr Asn Leu Gly
1 5

5 <210> 233
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Clon CP_03_H06 de CDR3 de Ligera
<400> 233

Gln Ser Phe Asp Ala Asp Asn Leu His
1 5

15 <210> 234
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Clon CP_03_C12 de CDR3 de Ligera
<400> 234

Met Gln Gly Ile Gln Leu Pro
1 5

25 <210> 235
<211> 7
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_03_G02 de CDR3 de Ligera
35 <400> 235

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
1 5

40 <210> 236
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Clon CP_03_D04 de CDR3 de Ligera
<400> 236

Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Asn
1 5

50 <210> 237
<211> 7
<212> PRT
55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Clon CP_03_F10 de CDR3 de Ligera
 <400> 237
 5
 Ser Ala Tyr Thr Gly Ser Asn
 1 5
 <210> 238
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_03_G09 de CDR3 de Ligera
 15 <400> 238
 Gln Val Trp Asp Ser Asn Ser
 1 5
 20 <210> 239
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Clon CP_03_F09 de CDR3 de Ligera
 <400> 239
 Gln Ser Tyr Asp Glu Val Ser
 1 5
 30
 <210> 240
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Clon CP_03_D09 de CDR3 de Ligera
 40 <400> 240
 Gln Ser Tyr Asn Ser Ser Asn His
 1 5
 45 <210> 241
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 50 <223> Clon CP_03_F02 de CDR3 de Ligera
 <400> 241
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser His
 1 5
 55

5 <210> 242
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_02_E03 de CDR3 de Ligera

 10 <400> 242

 Gln Gln Ser Arg Ser Thr Pro
 1 5

 15 <210> 243
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_03_H07 de CDR3 de Ligera
 20
 <400> 243

 Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr
 1 5

 25 <210> 244
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 30 <220>
 <223> Clon CP_03_C02 de CDR3 de Ligera

 <400> 244

 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Asn Leu
 1 5
 35

 <210> 245
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_03_E09 de CDR3 de Ligera
 45 <400> 245

 Asn Ser Tyr Thr Arg Ser Ser Thr
 1 5

 50 <210> 246
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 55 <223> Clon CP_03_D08 de CDR3 de Ligera

 <400> 246

ES 2 758 173 T3

Gln Ser Tyr Asp Asp Thr Asn
1 5

5 <210> 247
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
10 <223> Clon CP_03_E11 de CDR3 de Ligera

<400> 247

Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly
1 5

15 <210> 248
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Clon CP_03_B05 de CDR3 de Ligera

<400> 248

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn
1 5

25 <210> 249
<211> 8
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Clon CP_03_H02 de CDR3 de Ligera

35 <400> 249

Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly
1 5

40 <210> 250
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
45 <223> Clon CP_03_D02 de CDR3 de Ligera

<400> 250

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr
1 5

50 <210> 251
<211> 8
<212> PRT
55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Clon CP_03_E01 de CDR3 de Ligera
 <400> 251

5

Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Phe
 1 5

<210> 252
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Clon CP_03_C11 de CDR3 de Ligera
 <400> 252

15

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser
 1 5

20

<210> 253
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Clon CP_03_B12 de CDR3 de Ligera
 <400> 253

30

Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Asn Arg
 1 5

<210> 254
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>
 <223> Clon CP_03_E03 de CDR3 de Ligera
 <400> 254

40

Ser Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 1 5

45

<210> 255
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Clon CP_03_F01 de CDR3 de Ligera
 <400> 255

55

Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly
 1 5

<210> 256
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 5 <223> Clon CP_03_C01 de CDR3 de Ligera

 <400> 256

 Gln Val Trp Asp Ser Ser Thr Ala Asn
 1 5
 10
 <210> 257
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Clon CP_03_G07 de CDR3 de Ligera

 <400> 257
 20
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His His
 1 5

 <210> 258
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_03_E02 de CDR3 de Ligera
 30
 <400> 258

 Ser Ser Tyr Ala Gly Asn Ser Asn
 1 5
 35
 <210> 259
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Clon CP_03_C07 de CDR3 de Ligera

 <400> 259

 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly
 1 5
 45
 <210> 260
 <211> 10
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_03_H04 de CDR3 de Ligera
 55
 <400> 260

ES 2 758 173 T3

		Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Gly
		1 5 10
5	<210> 261	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
10	<220>	
	<223> Clon CP_03_E06 de CDR3 de Ligera	
	<400> 261	
		Ser Ser Leu Asp Ser Asn Asp Asn His
		1 5
15	<210> 262	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
20	<220>	
	<223> Clon CP_03_H03 de CDR3 de Ligera	
	<400> 262	
		Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly
		1 5
25	<210> 263	
	<211> 8	
	<212> PRT	
30	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Clon CP_03_G11 de CDR3 de Ligera	
35	<400> 263	
		Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr
		1 5
40	<210> 264	
	<211> 7	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
45	<223> Clon CP_03_G01 de CDR3 de Ligera	
	<400> 264	
		His Gln Tyr Asp Val Tyr Pro
		1 5
50	<210> 265	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
55	<220>	

<223> Clon CP_03_H01 de CDR3 de Ligera

<400> 265

	Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
5	1 5

<210> 266

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_03_F11 de CDR3 de Ligera

15 <400> 266

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn
1 5

<210> 267

20 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Clon CP_03_C06 de CDR3 de Ligera

<400> 267

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn
1 5

30 <210> 268

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35

<220>

<223> Clon CP_03_D03 de CDR3 de Ligera

<400> 268

40

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn
1 5

<210> 269

<211> 8

45 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Clon CP_03_G05 de CDR3 de Ligera

50

<400> 269

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr Thr
1 5

55 <210> 270

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Clon CP_03_G12 de CDR3 de Ligera
 <400> 270

 10 Ser Ser Tyr Thr Pro Ser Ser
 1 5

 <210> 271
 <211> 8
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Clon CP_03_C10 de CDR3 de Ligera
 20 <400> 271

 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly
 1 5

 25 <210> 272
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 30 <223> Clon CP_03_F04 de CDR3 de Ligera
 <400> 272

 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly
 1 5
 35

REIVINDICACIONES

1. Un receptor quimérico de antígeno (CAR) que comprende un dominio de unión a antígeno que se une selectivamente a la región constante de TCR beta 1 (TRBC1) o TRBC2.
2. Un CAR de acuerdo con la reivindicación 1, que se une selectivamente a TRBC1.
3. Un CAR de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el dominio de unión a antígeno tiene una cadena pesada variable (VH) y una cadena ligera variable (VL) que comprende las siguientes regiones determinantes de la complementariedad (CDR):
 - CDR1 de VH: SEQ ID NO: 7;
 - CDR2 de VH: SEQ ID NO: 8;
 - CDR3 de VH: SEQ ID NO: 9;
 - CDR1 de VL: SEQ ID NO: 10;
 - CDR2 de VL: SEQ ID NO: 11; y
 - CDR3 de VL: SEQ ID NO: 12.
4. Un CAR de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el dominio de unión a antígeno comprende una cadena pesada variable (VH) que tiene la secuencia mostrada como la SEQ ID NO: 1 y una cadena ligera variable (VL) que tiene la secuencia mostrada como la SEQ ID NO: 2.
5. Un CAR de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 4, 5 y 6.
6. Un CAR de acuerdo con la reivindicación 1, que se une selectivamente a TRBC2.
7. Una secuencia del ácido nucleico que codifica un CAR de acuerdo con cualquier reivindicación anterior.
8. Un vector que comprende una secuencia del ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 7.
9. Una célula que comprende un CAR de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
10. Un linfocito T de acuerdo con la reivindicación 9.
11. Un método para producir una célula de acuerdo con la reivindicación 9 o 10 que comprende la etapa de transducir o transfectar una célula ex vivo con una secuencia del ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 7 o con un vector de acuerdo con la reivindicación 8.
12. Una célula de acuerdo con la reivindicación 9 o 10 para su uso en un método para tratar un linfoma o una leucemia de linfocitos T en un sujeto que comprende la etapa de administrar la célula que comprende el CAR selectivo para TCRB1 o TCRB2 al sujeto, para provocar el agotamiento selectivo de los linfocitos T malignos, junto con los linfocitos T normales que expresan la misma TRBC que los linfocitos T malignos, pero no para provocar el agotamiento de los linfocitos T normales que expresan la TRBC no expresada por los linfocitos T malignos.
13. Una célula para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el método también comprende la etapa de investigar la región constante de TCR beta (TCRB) de un linfocito T maligno del sujeto para determinar si expresa TRBC1 o TRBC2.
14. Una célula para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en la que el linfoma o leucemia de linfocitos T se selecciona de linfoma periférico de linfocitos T, no especificado (PTCL-NOS); linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T (AITL), linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), linfoma de linfocitos T asociado a enteropatía (EATL), linfoma hepatoesplénico de linfocitos T (HSTL), linfoma de linfocitos NK/T extraganglionar de tipo nasal, linfoma cutáneo de linfocitos T, ALCL cutáneo primario, leucemia prolinfocítica de linfocitos T y leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T.
15. Un método para diagnosticar un linfoma o leucemia de linfocitos T en un sujeto que comprende la etapa de determinar el porcentaje de linfocitos T totales en una muestra aislada del sujeto que son TRBC1 o TRBC2 positivos.
16. Un método para seleccionar una terapia adecuada para tratar a un sujeto que padece linfoma o leucemia de linfocitos T que comprende:
 - i) determinar si un linfocito T maligno del sujeto expresa TRBC1 o TRBC2; y
 - ii) seleccionar una célula para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 basándose en la expresión de TRBC1 o TRBC2 de dicho linfocito T maligno.

17. Un método para seleccionar un sujeto que padece linfoma o leucemia de linfocitos T para recibir una terapia basada en una célula para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, que comprende:

- i) determinar si un linfocito T maligno del sujeto expresa TRBC1 o TRBC2; y
- 5 ii) seleccionar dicho sujeto para recibir una terapia basada en una célula para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 basándose en la expresión de TRBC1 o TRBC2 de dicho linfocito T maligno.

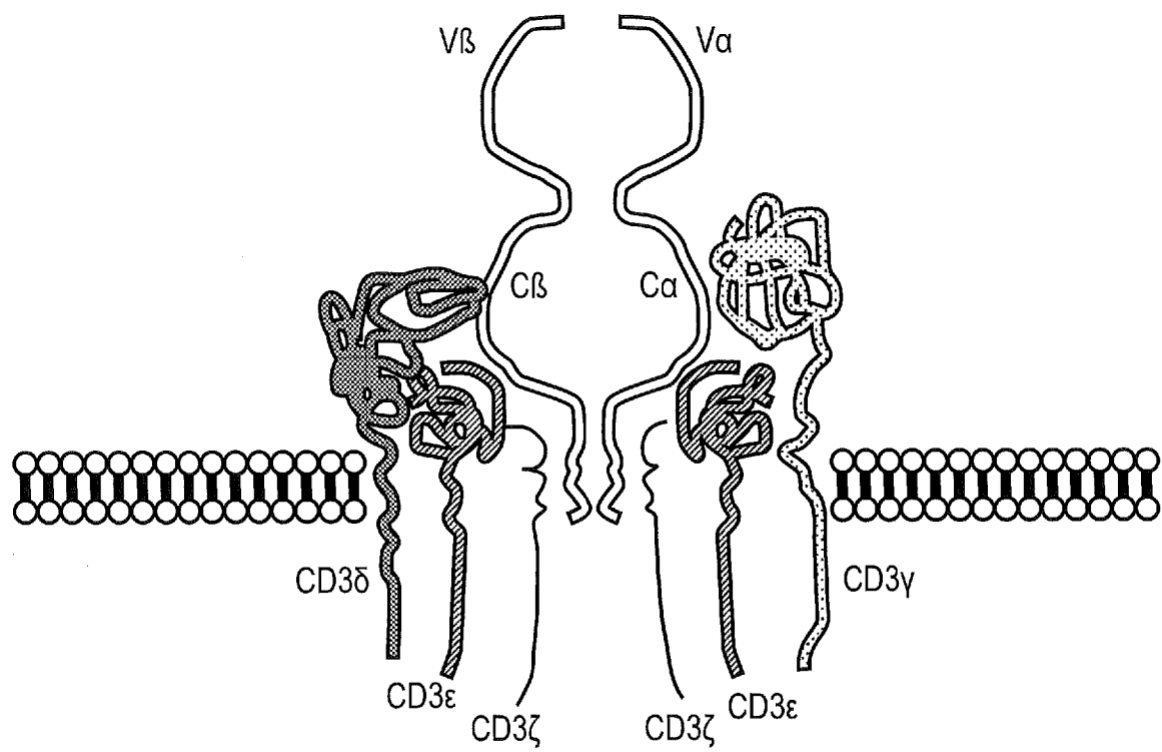


FIG. 1

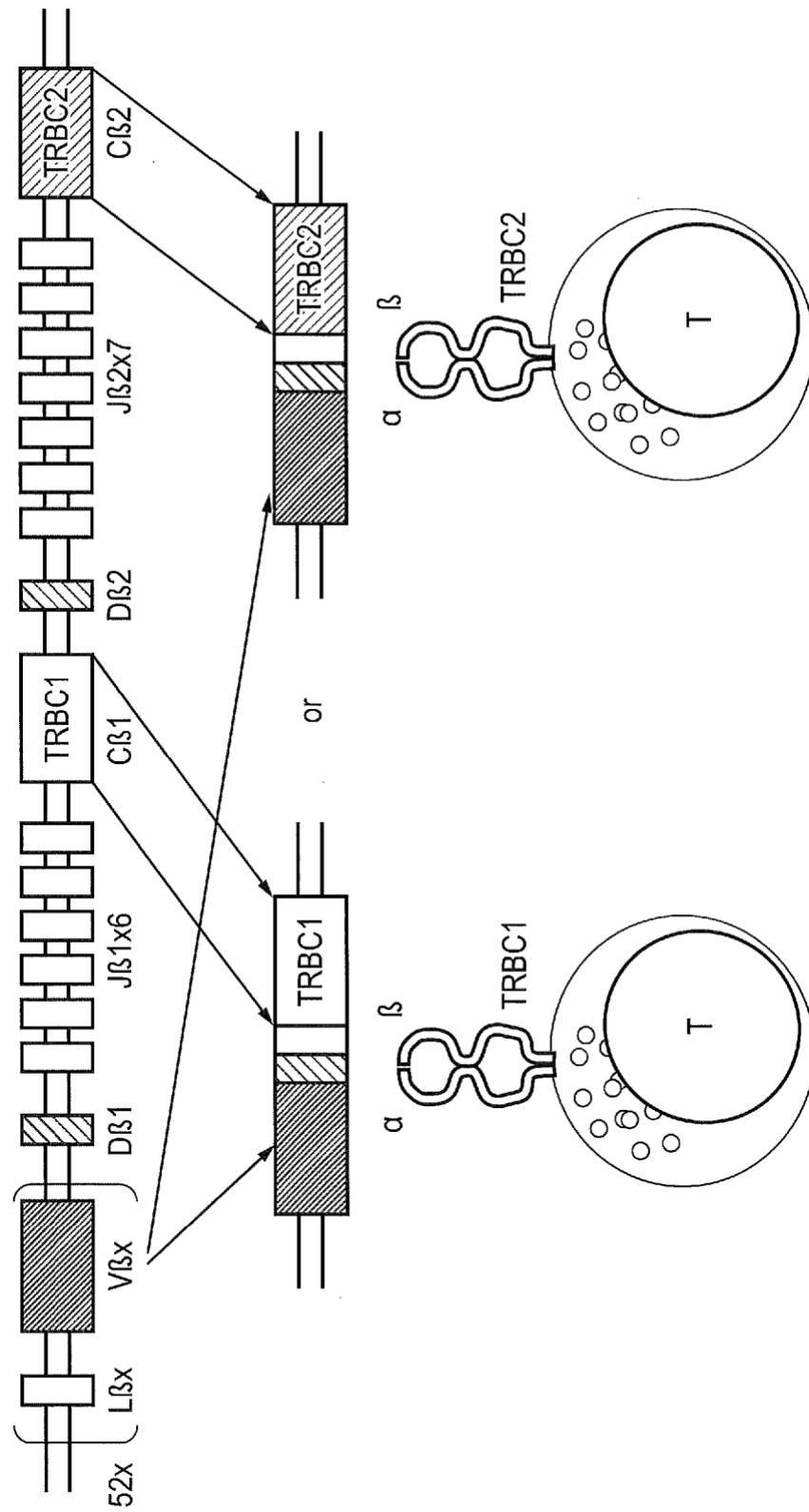


FIG. 2

TRBC1	1	DLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGF EPDHVELSWVNGKEVHSGVSTDPO
TRBC2	1	DLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFY PDHVELSWVNGKEVHSGVSTDPO
TRBC1	61	PLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTDRAKPVTOIV
TRBC2	61	PLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTDRAKPVTOIV
TRBC1	121	SAEAWGRADCGFTS VS YQOGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKD
TRBC2	121	SAEAWGRADCGFTS E S YQOGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKD

FIG. 3

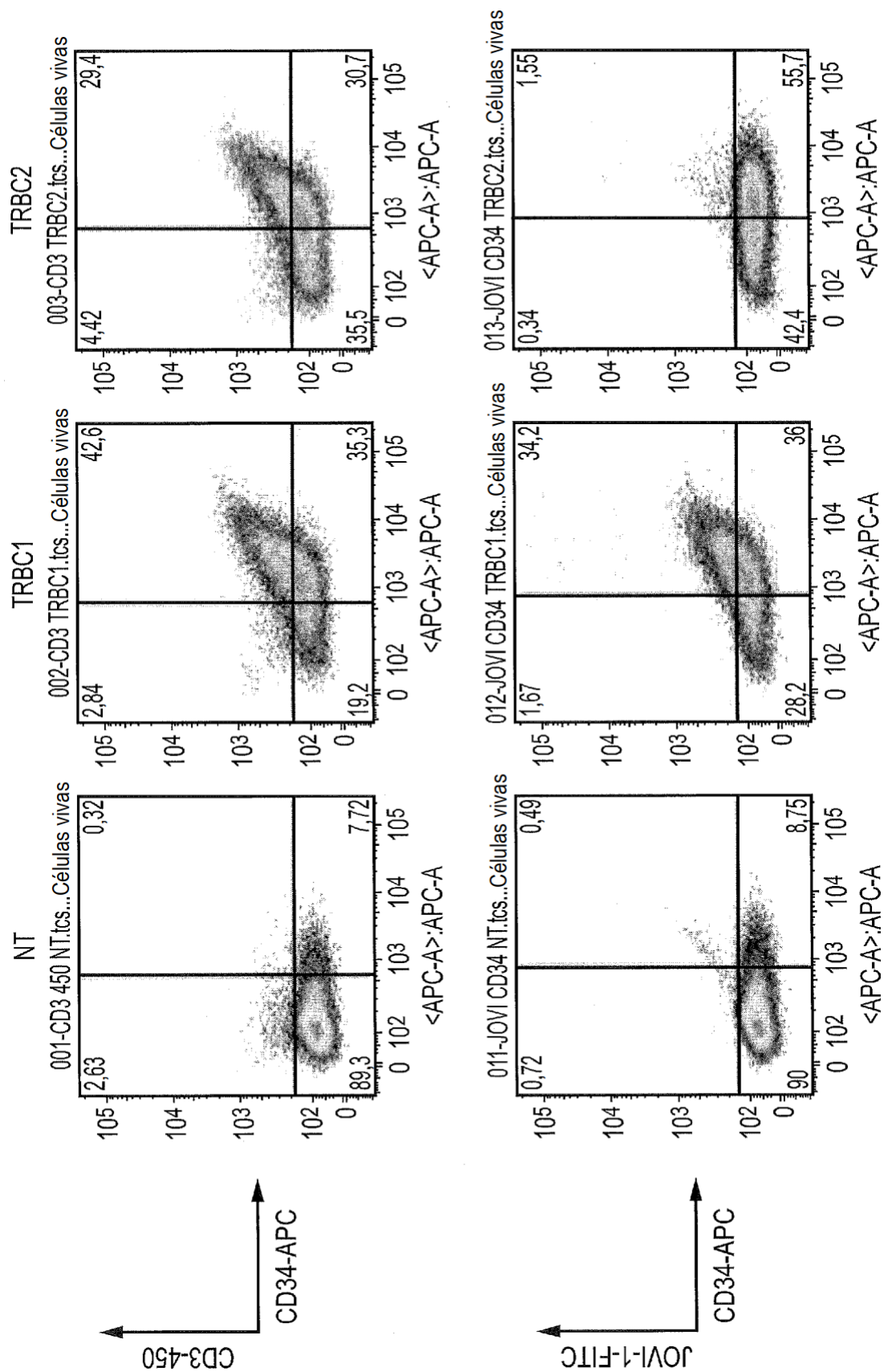


FIG. 4

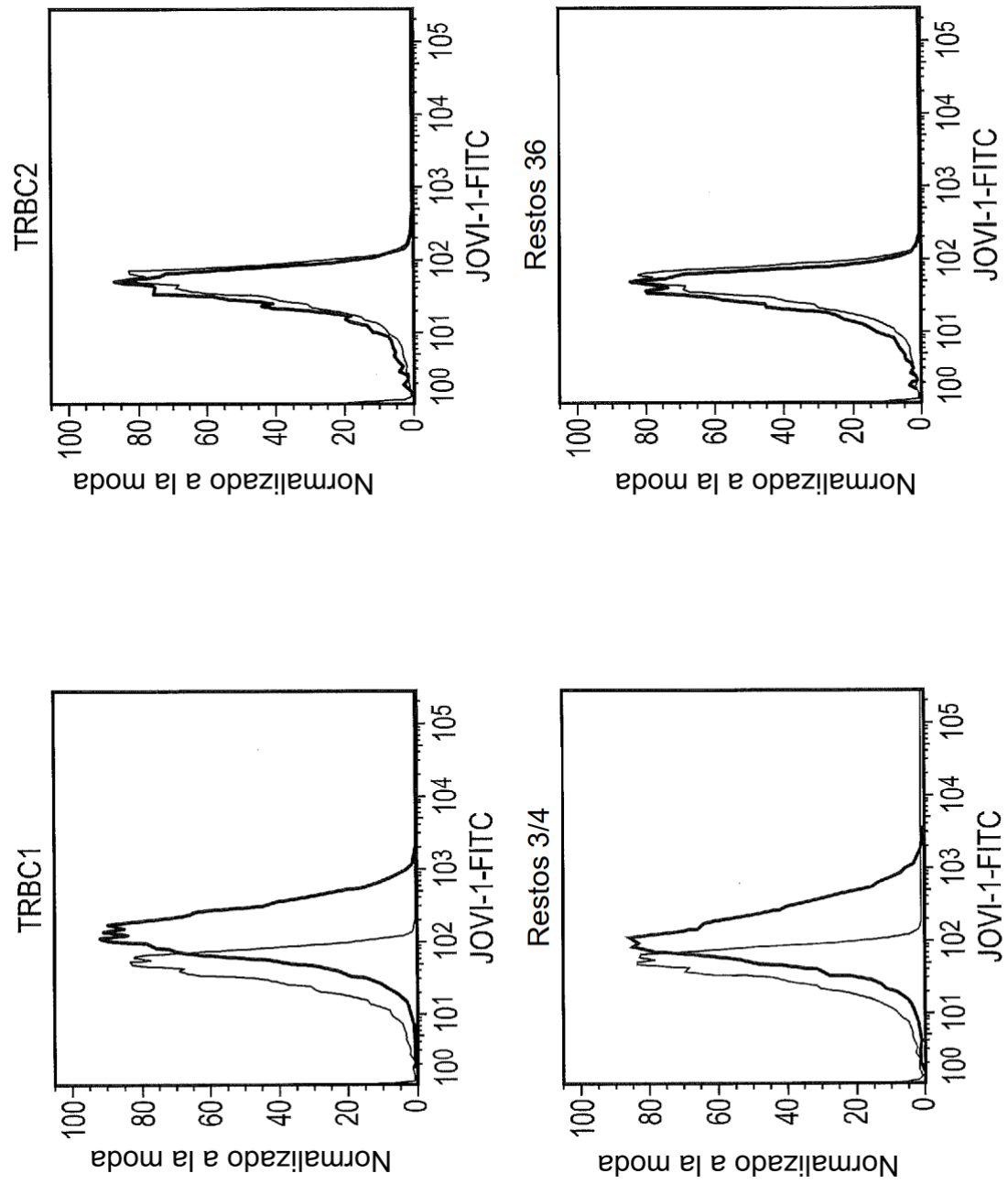


FIG. 5

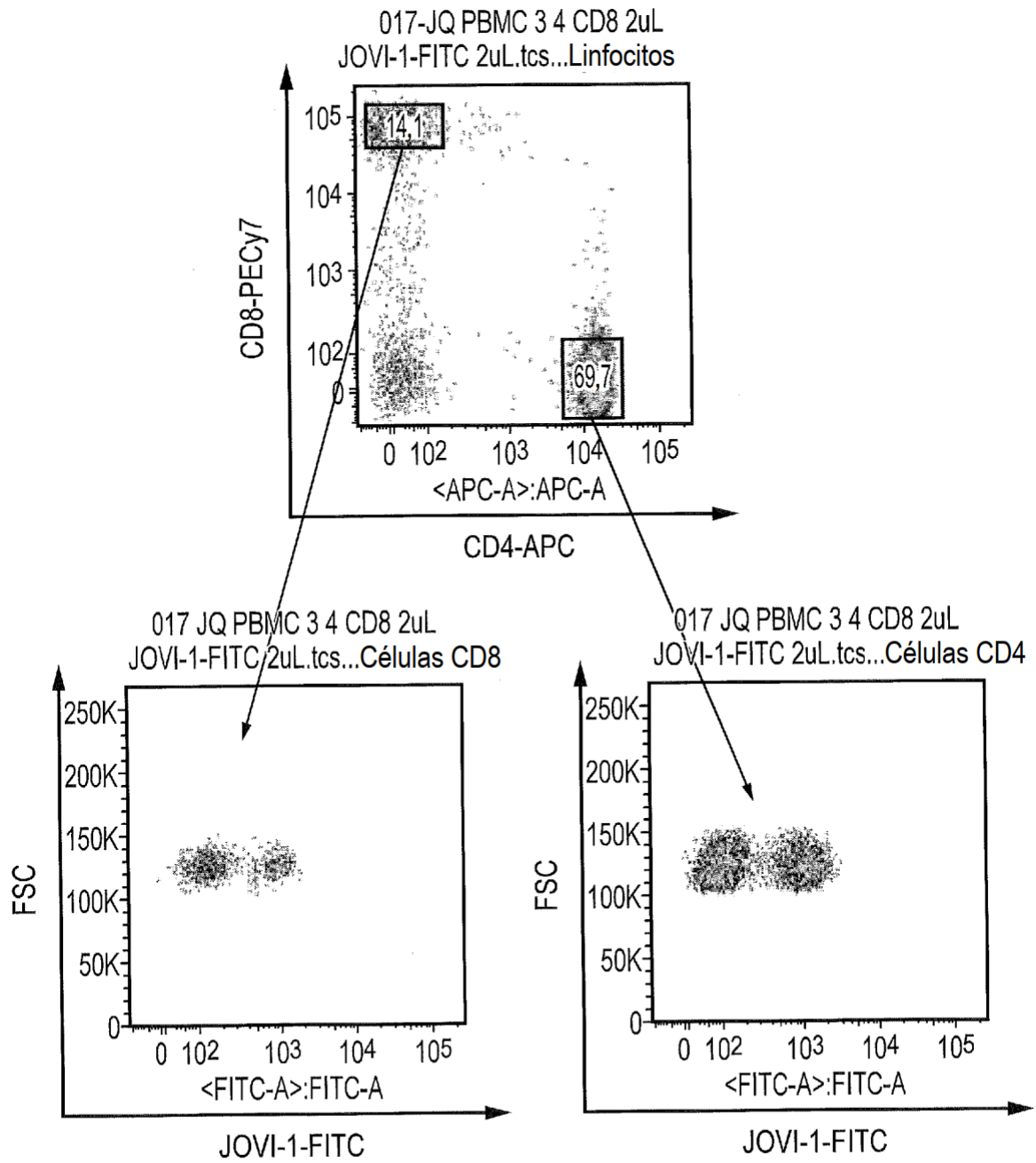


FIG. 6

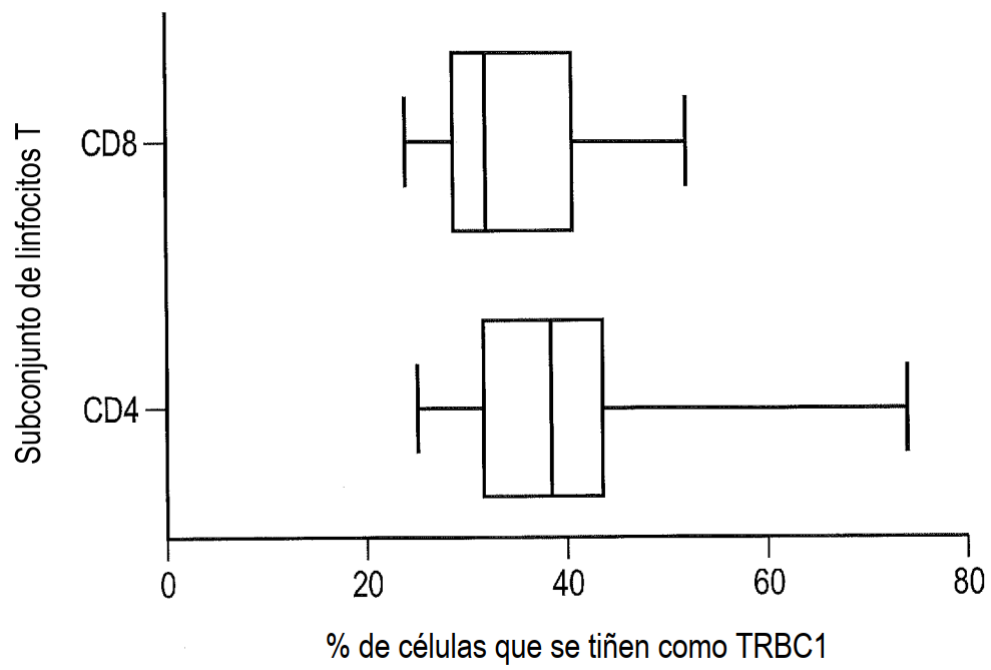


FIG. 7

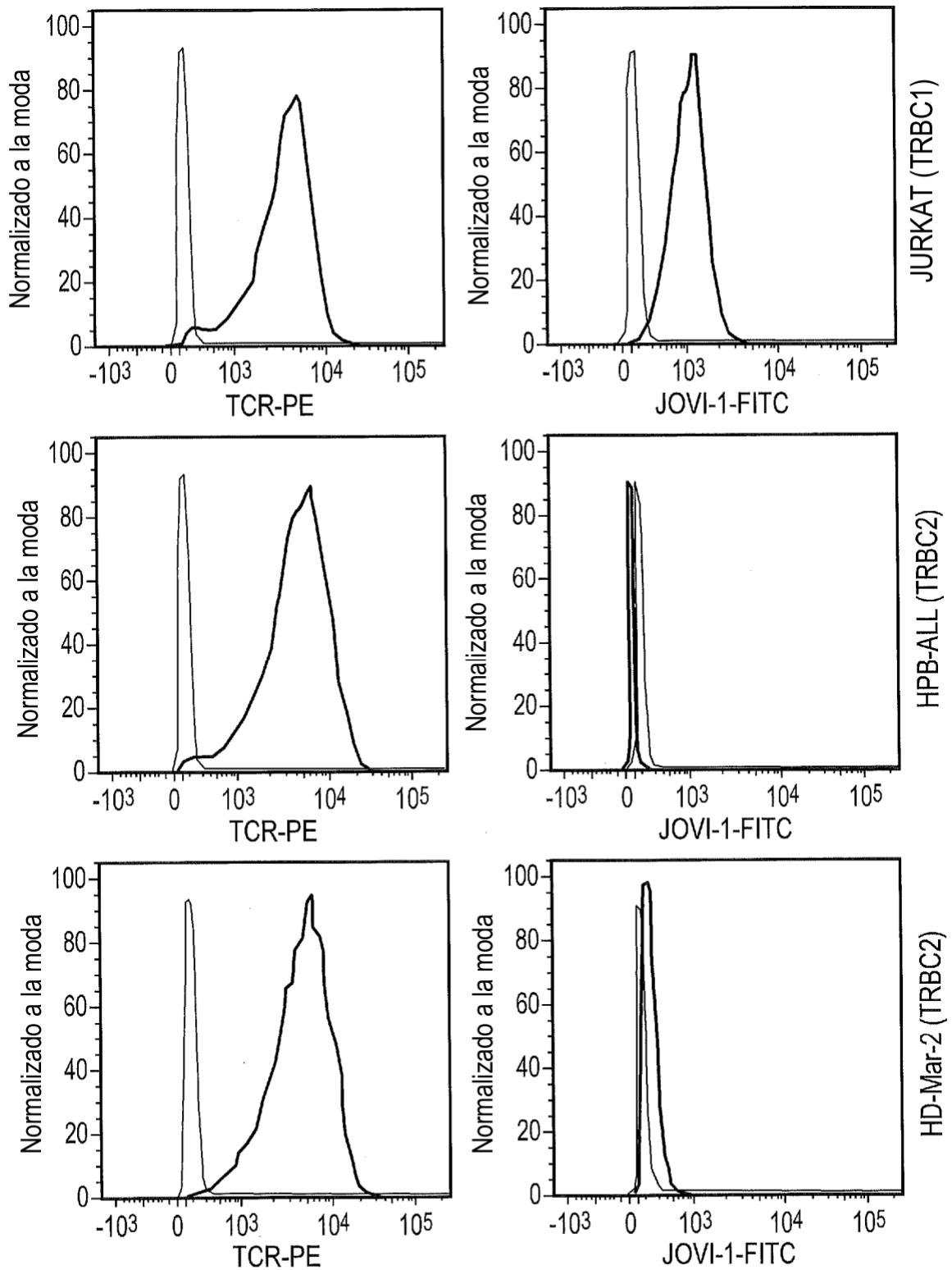


FIG. 8

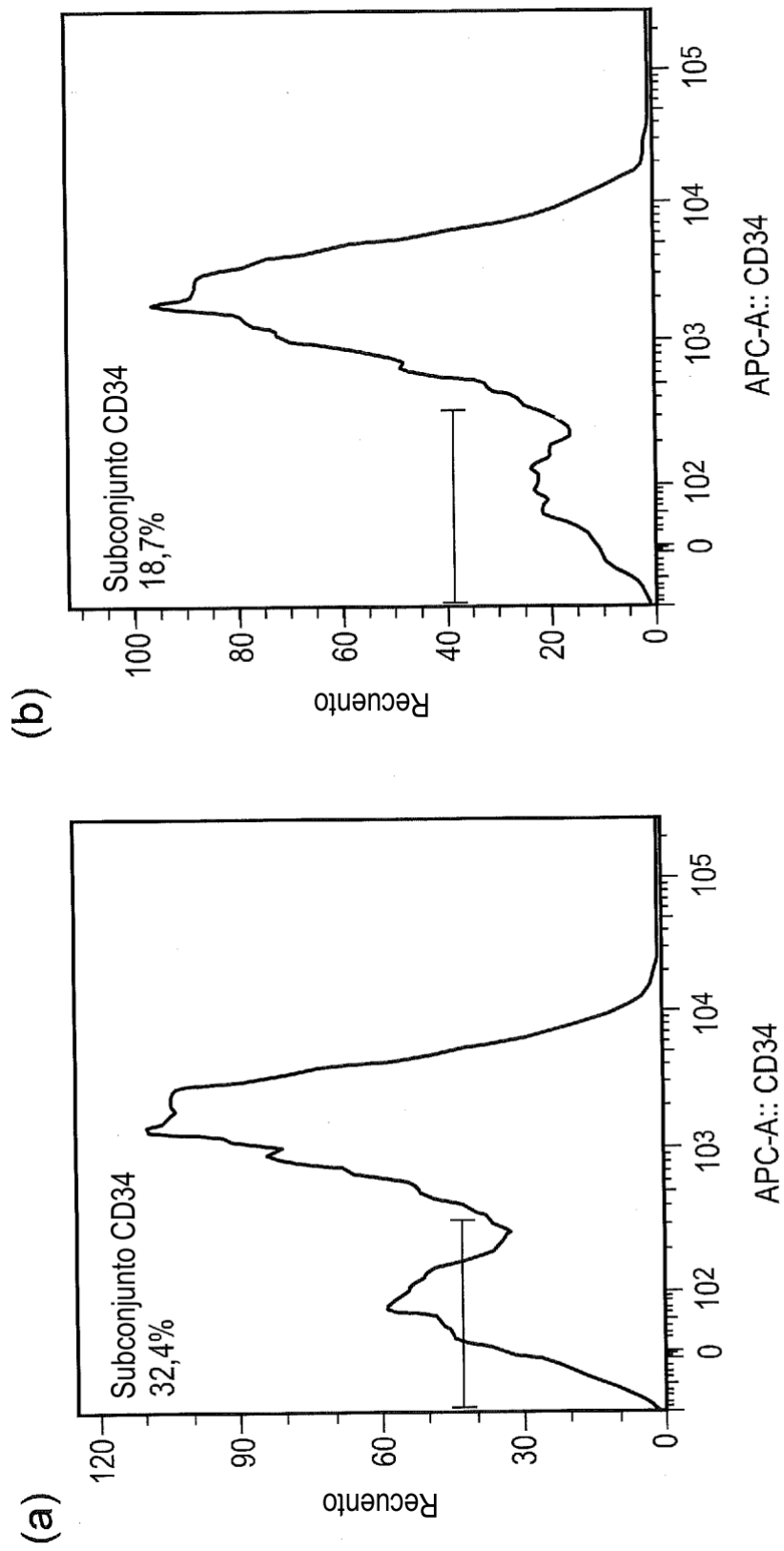


FIG. 9

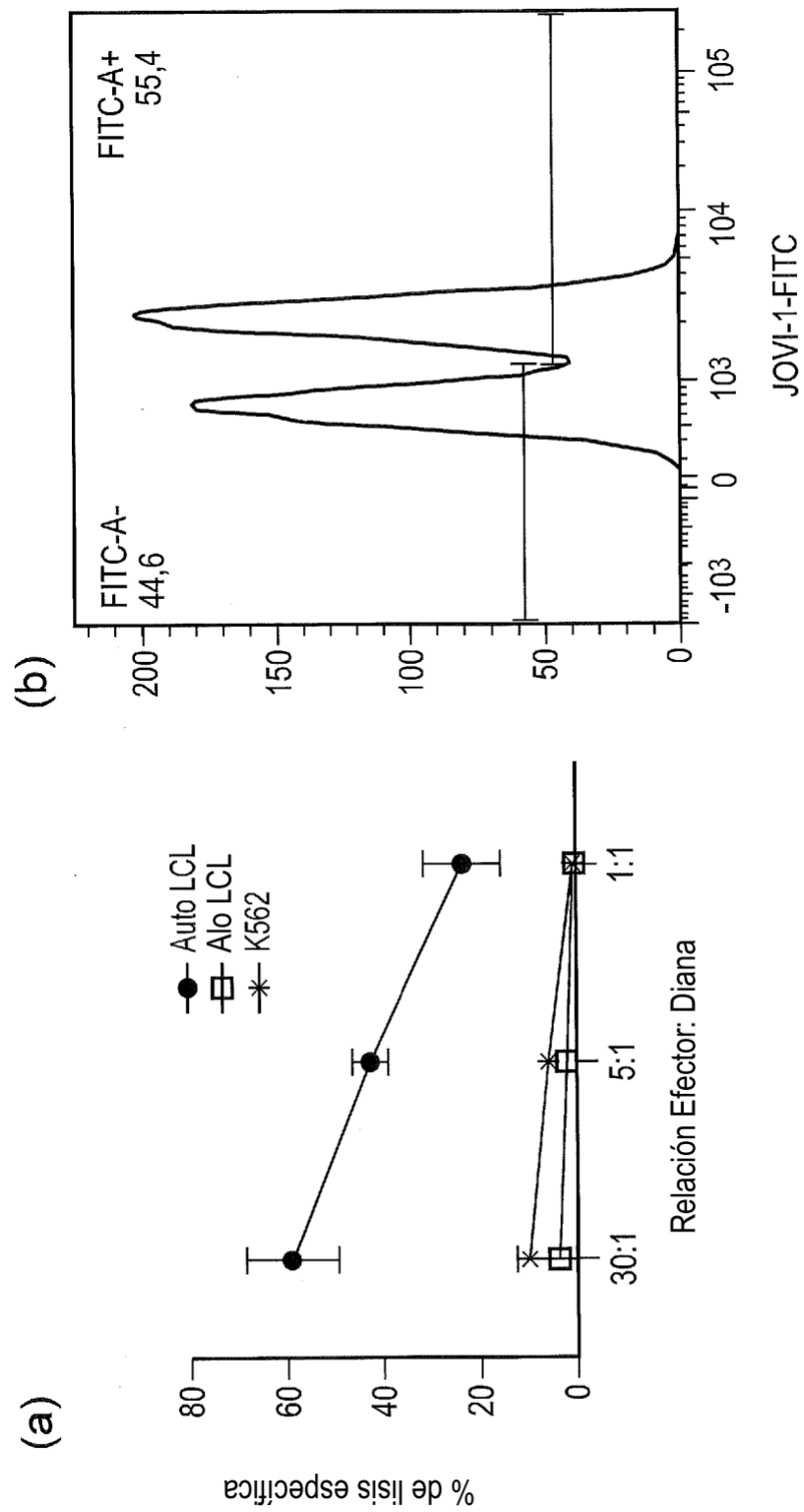


FIG. 10

>VH

EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRP
GQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSS
LTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTTLTVSS

>VL

DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYL
QKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE
DLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIKR

FIG. 11

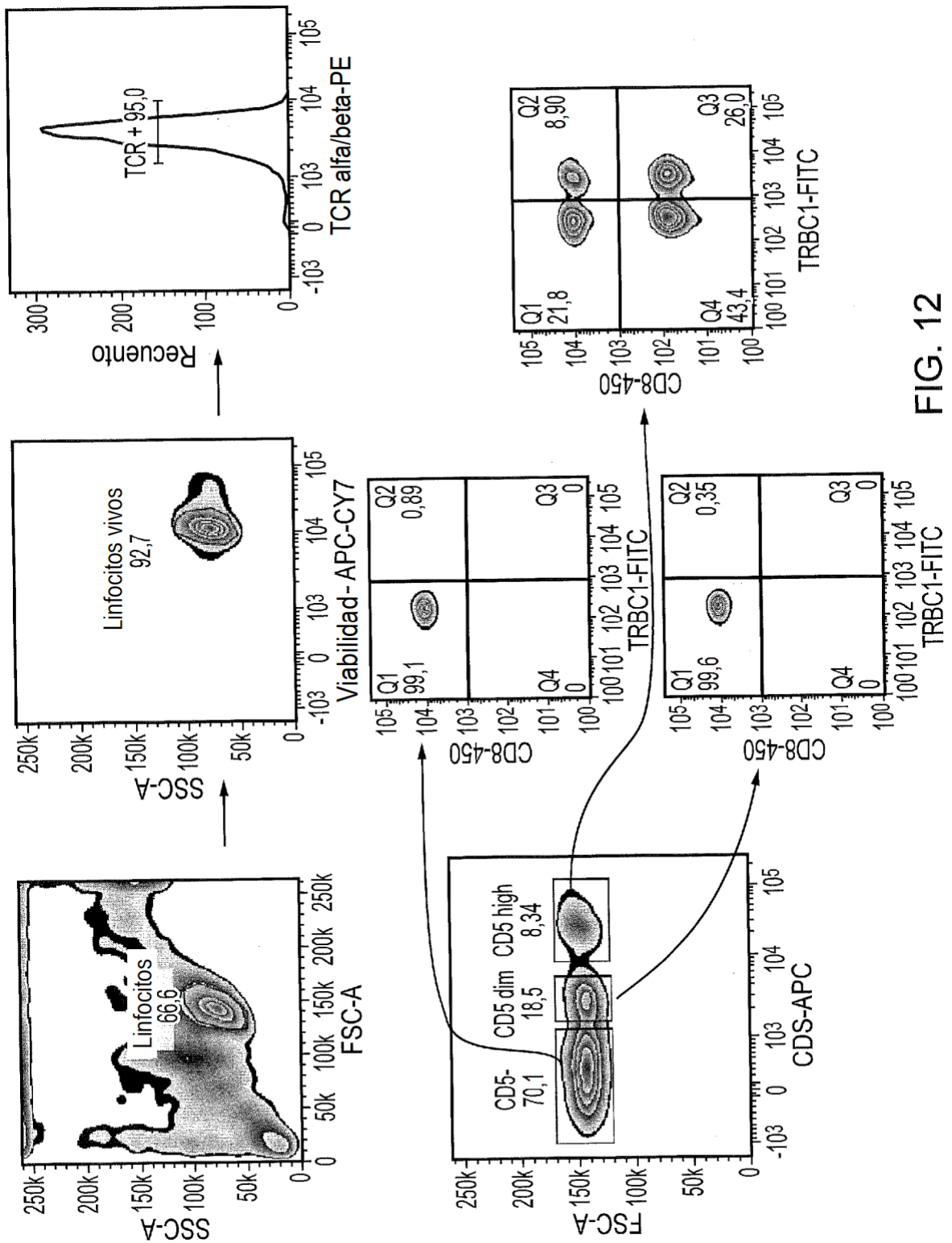
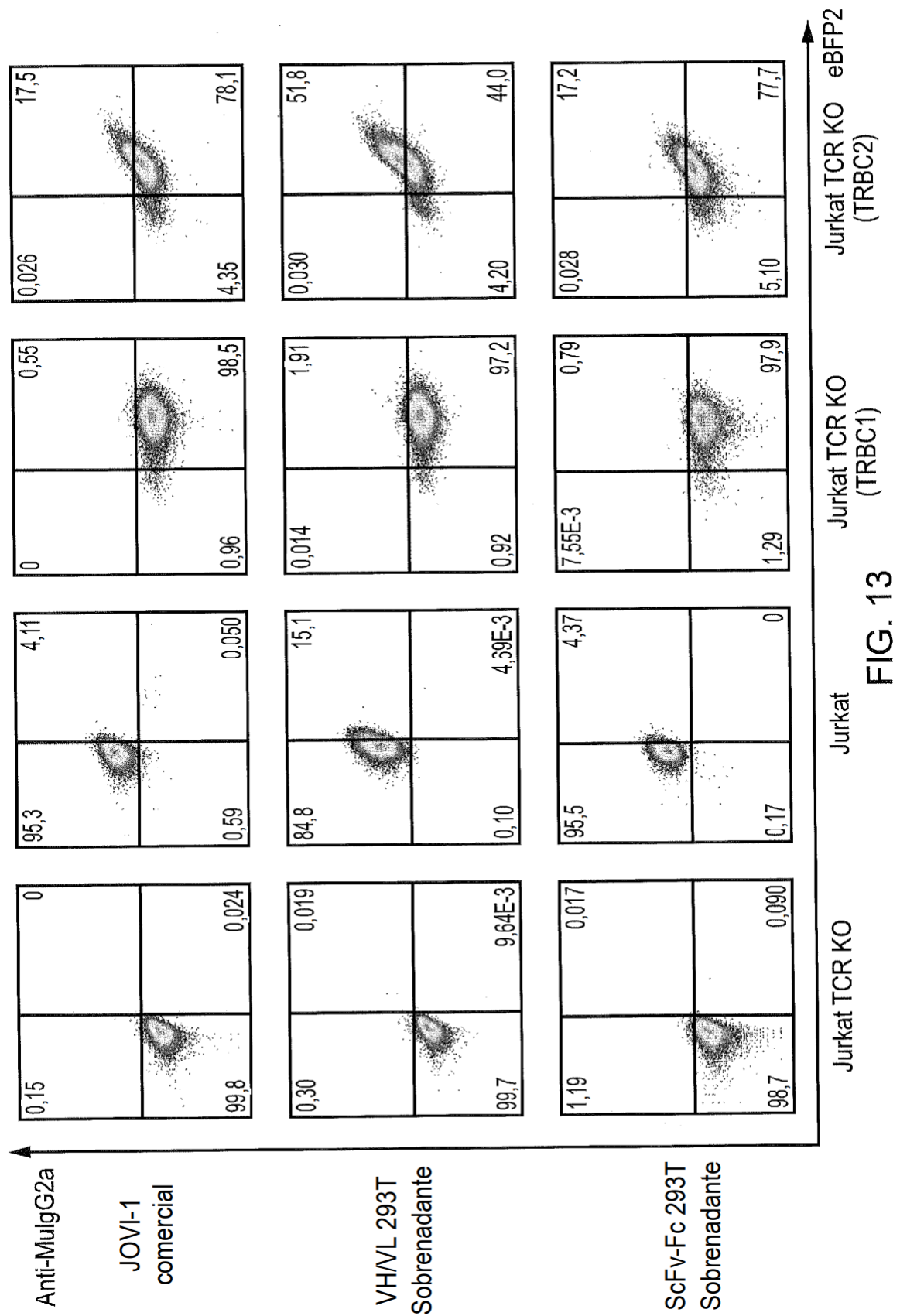


FIG. 12



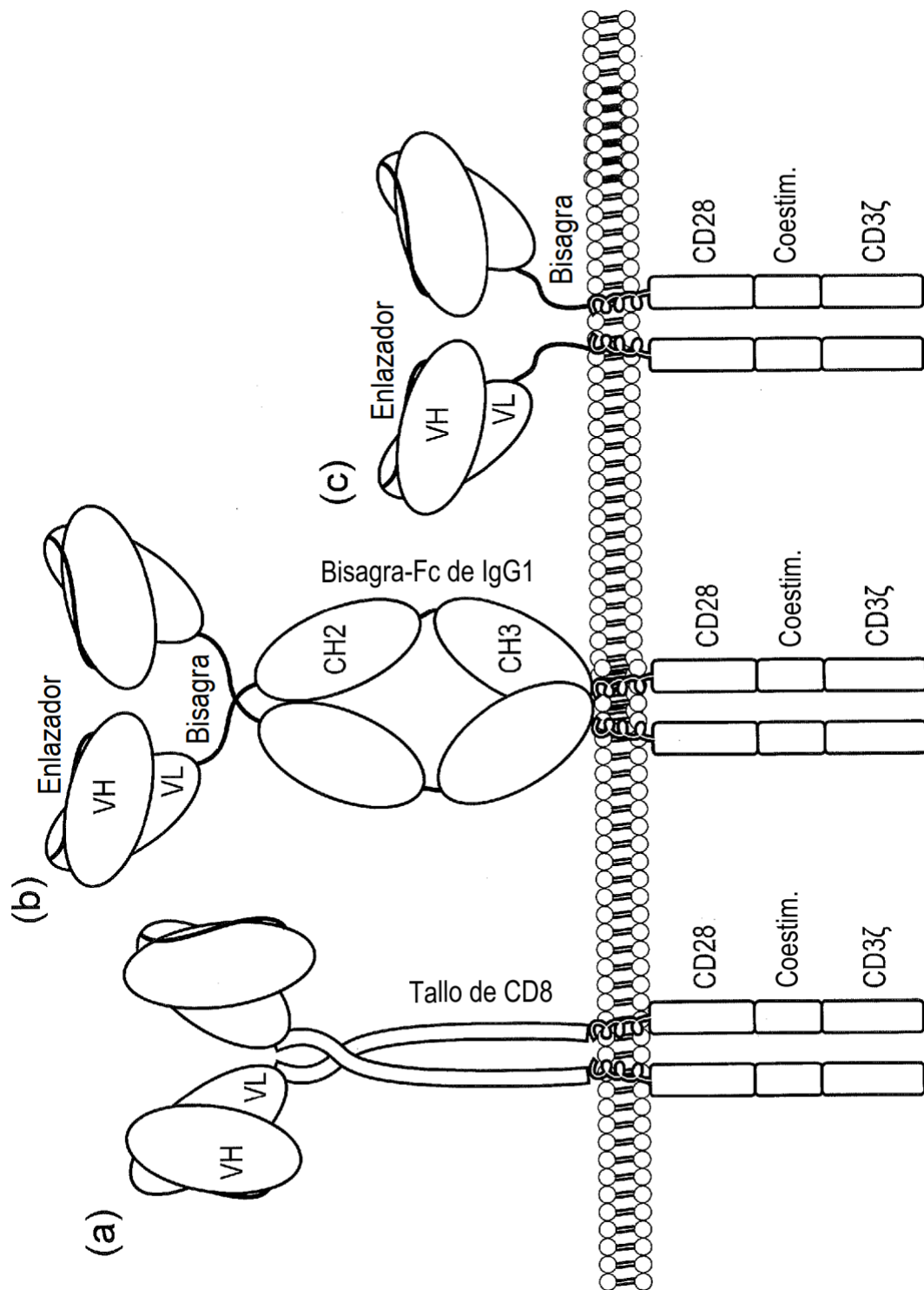


FIG. 14

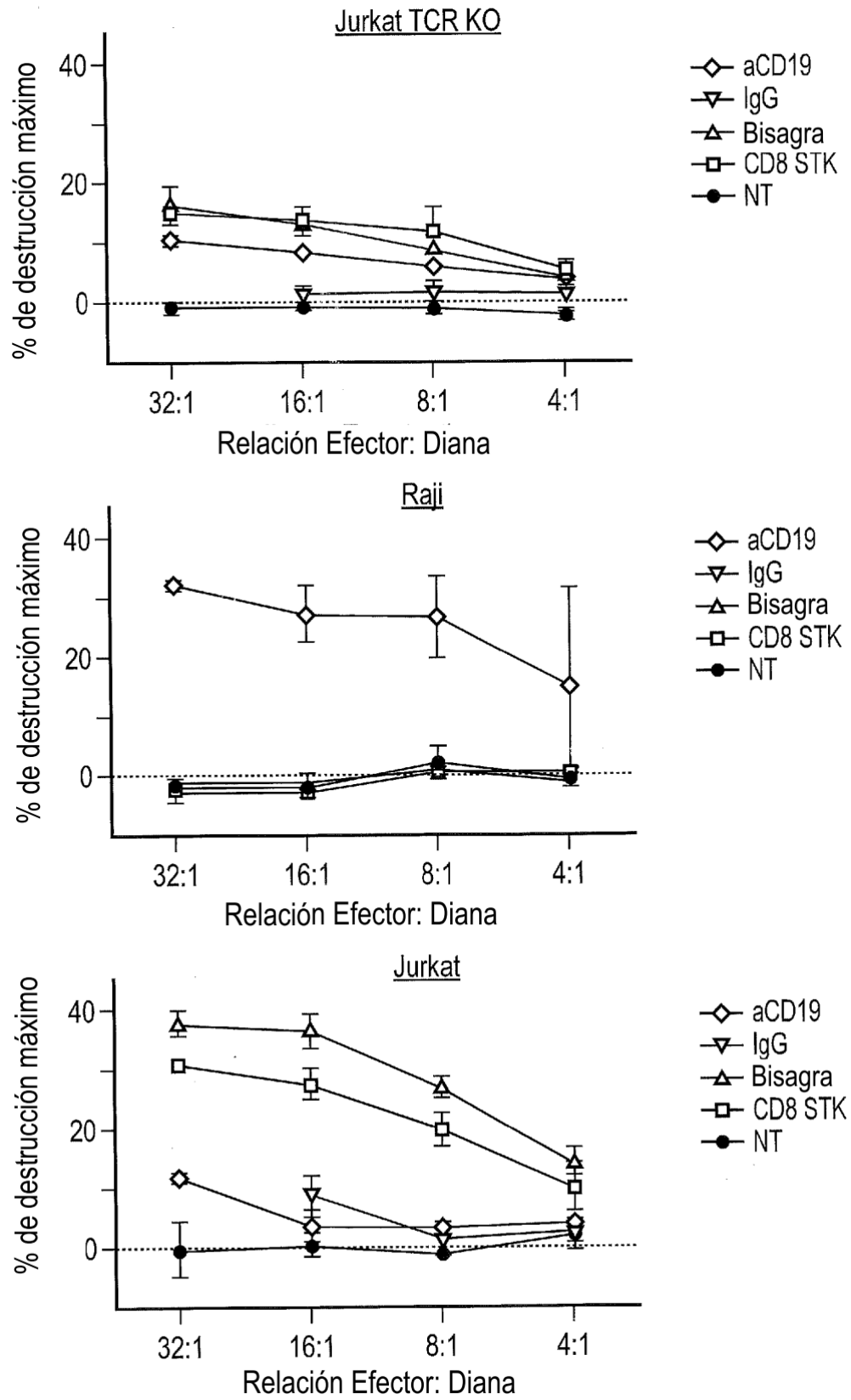


FIG. 15

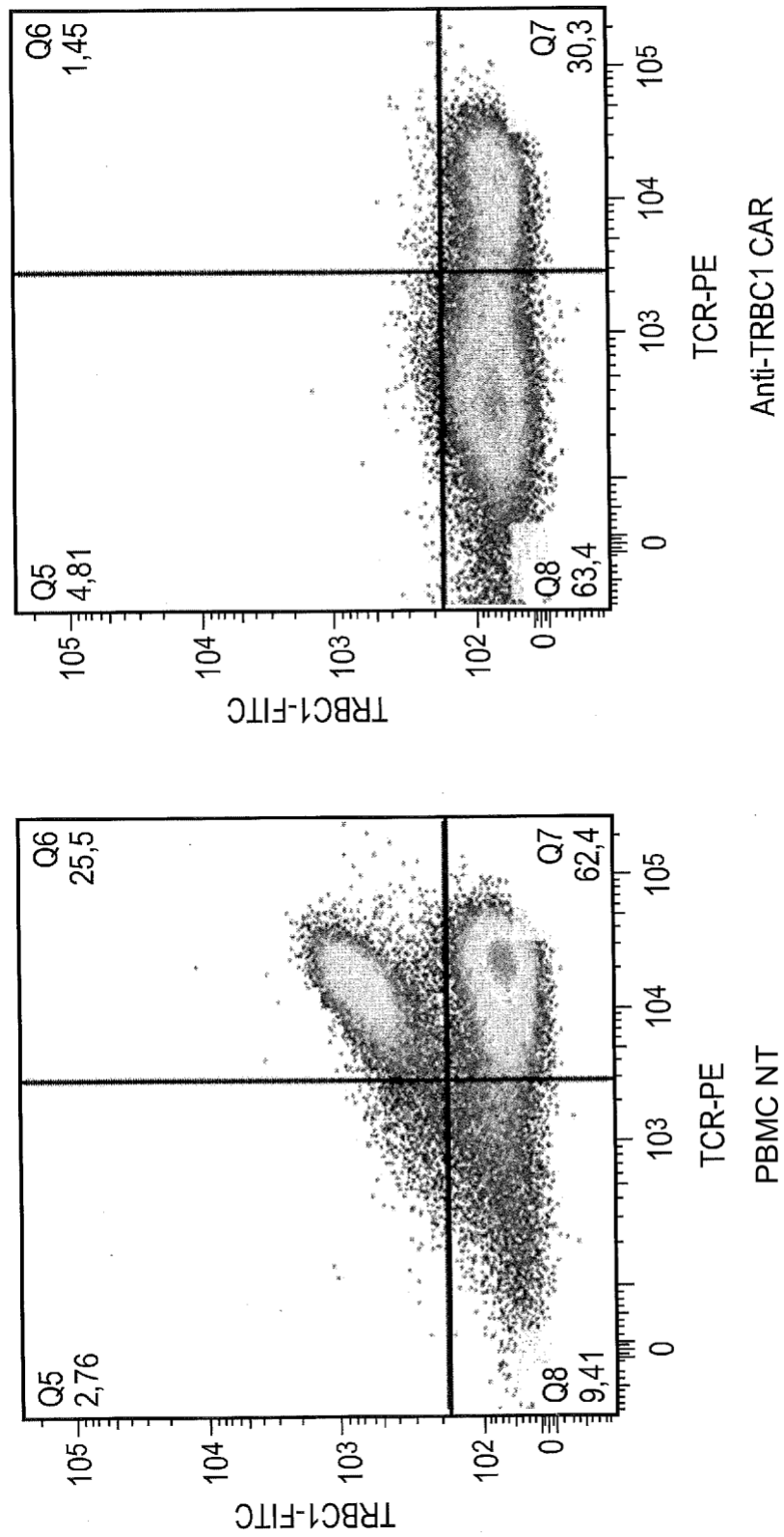
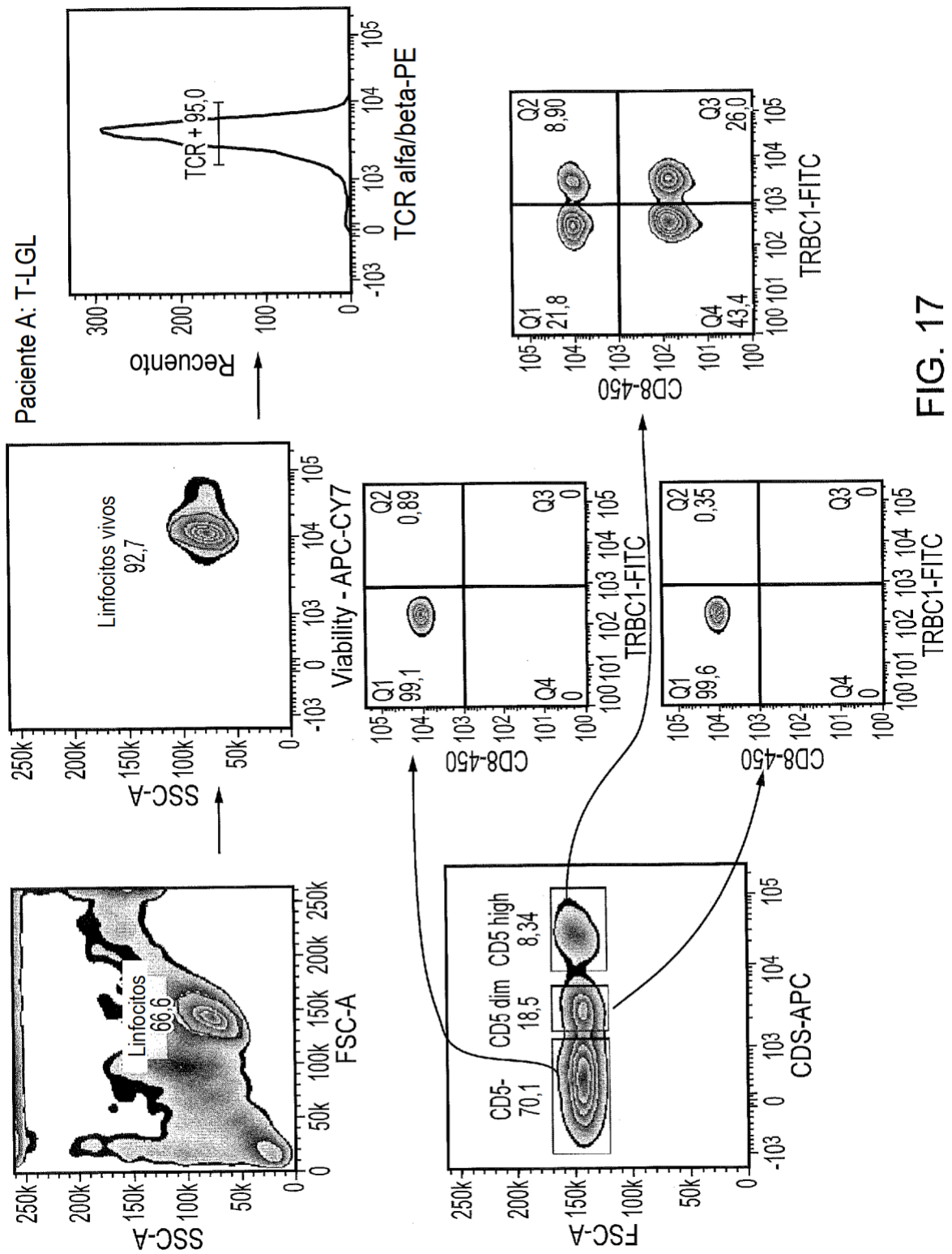


FIG. 16



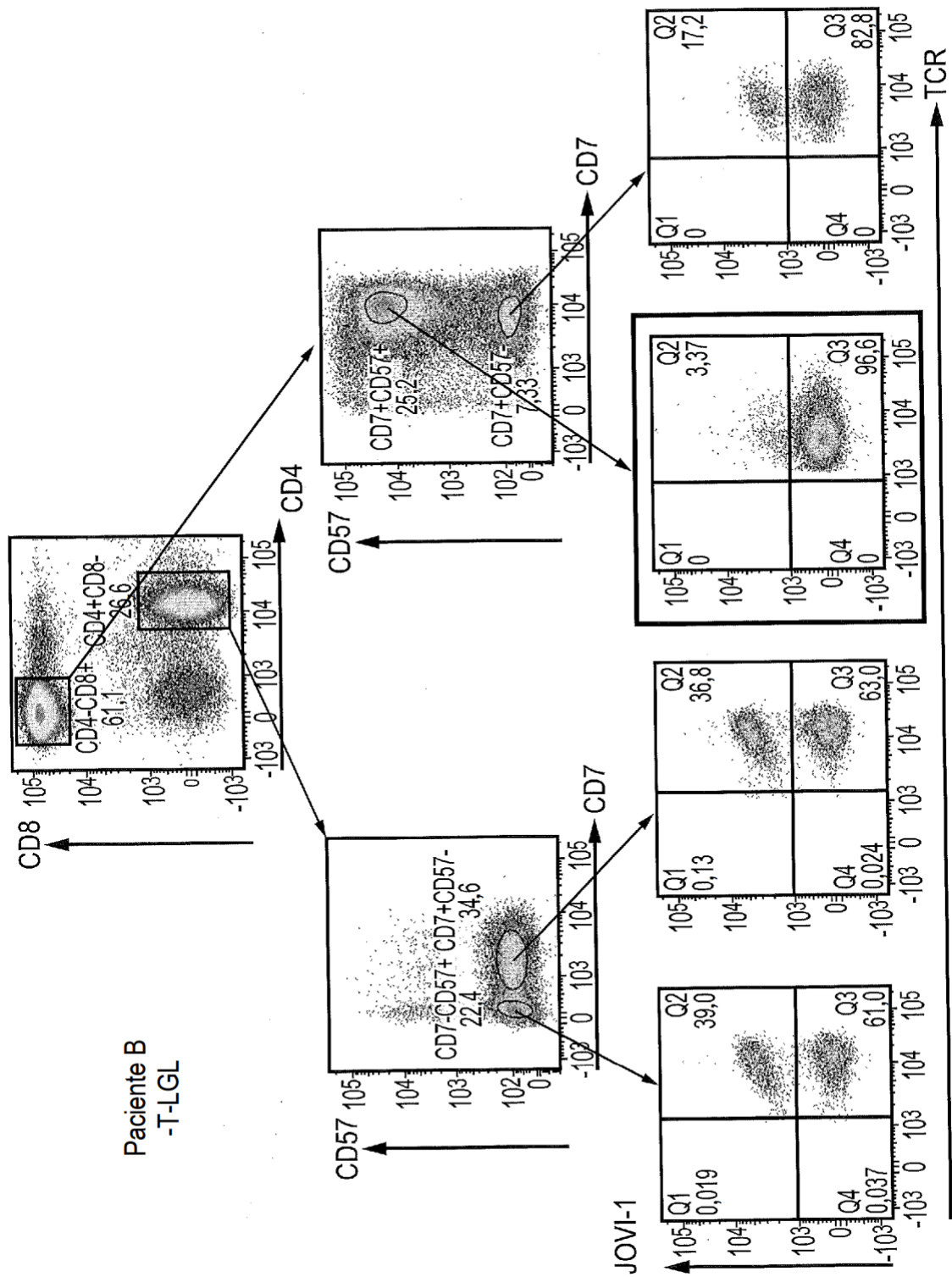


FIG. 18

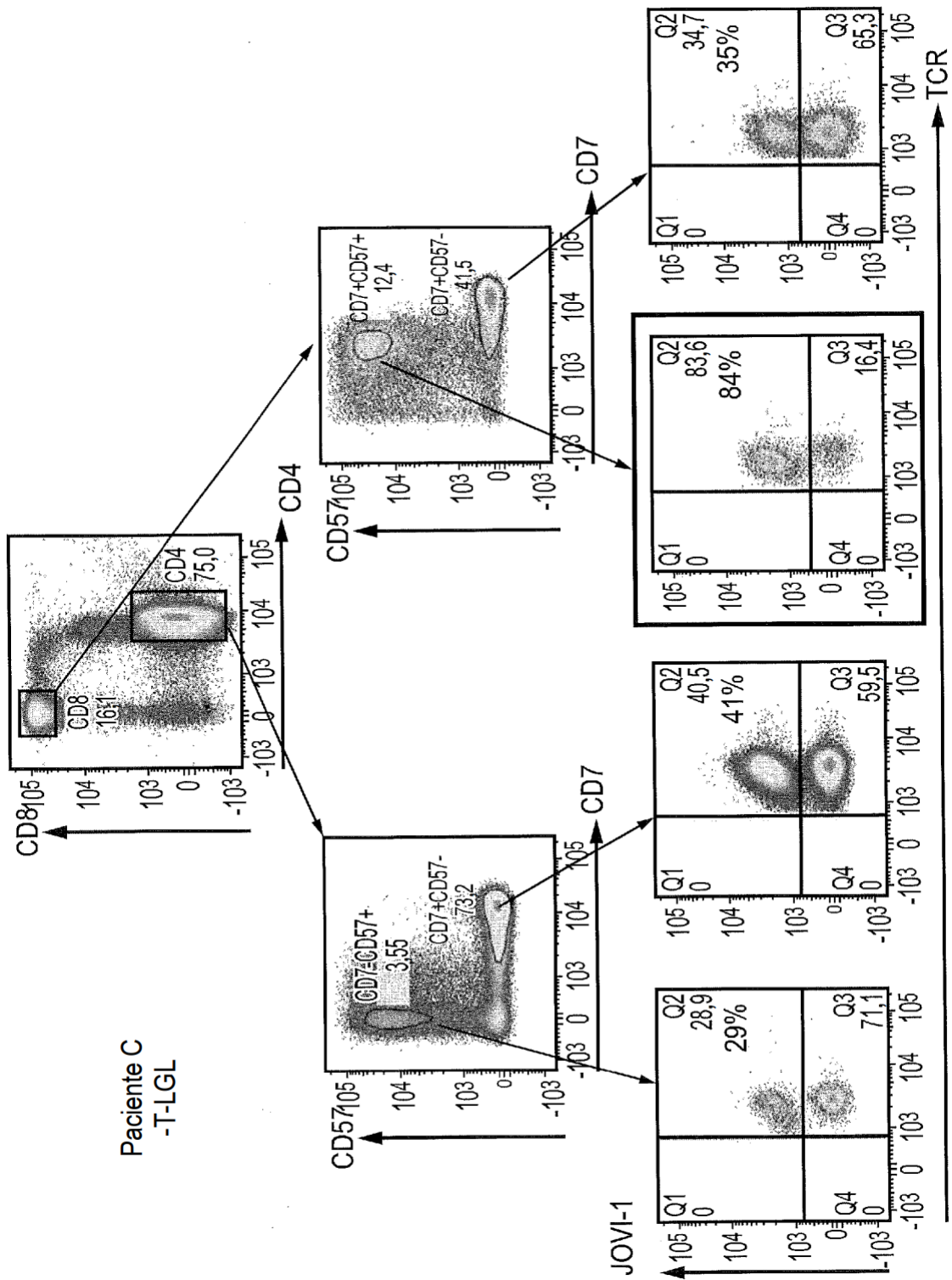
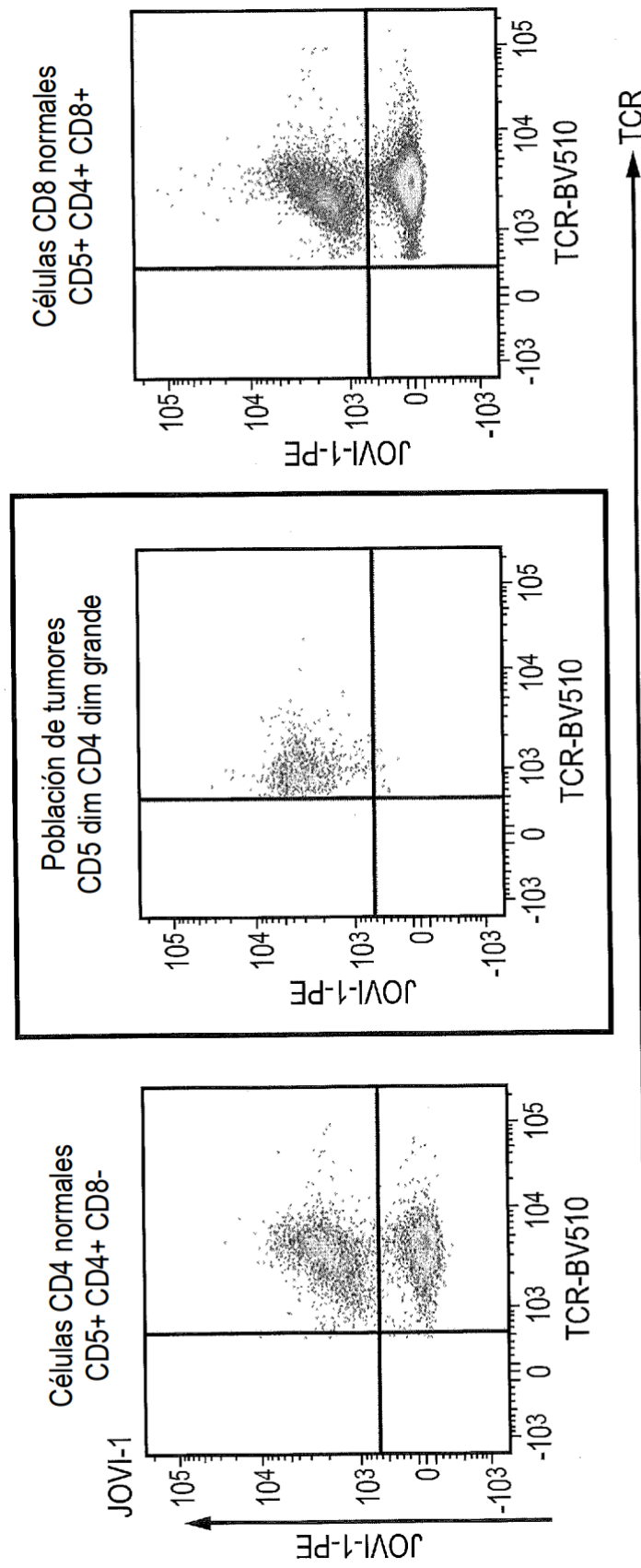


FIG. 19



Paciente D: PTCL-NOS

FIG. 20

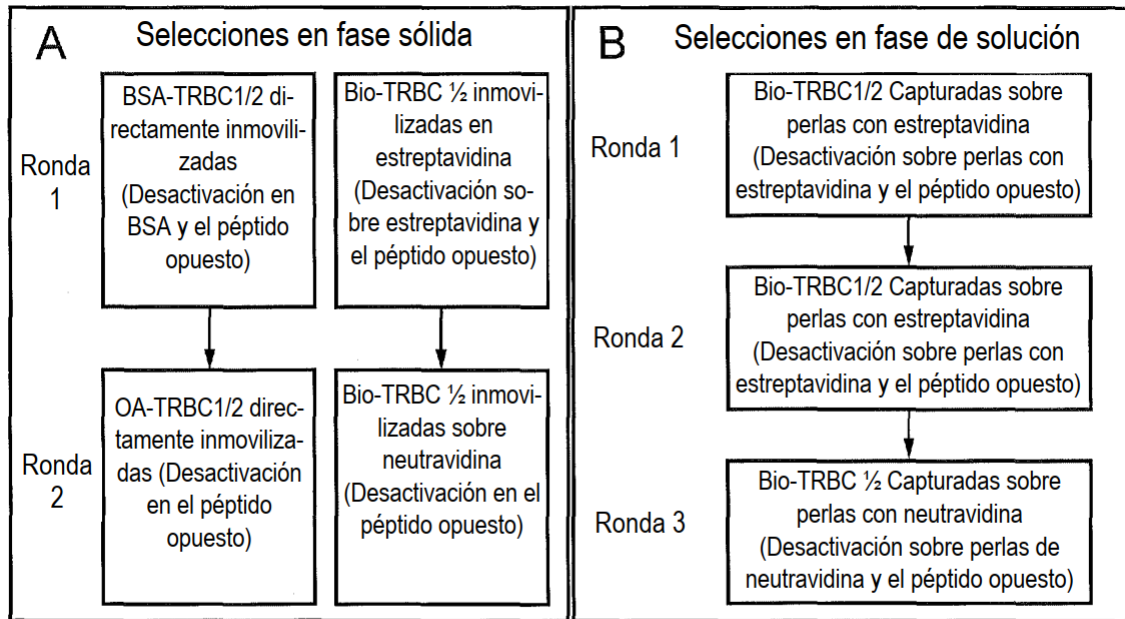
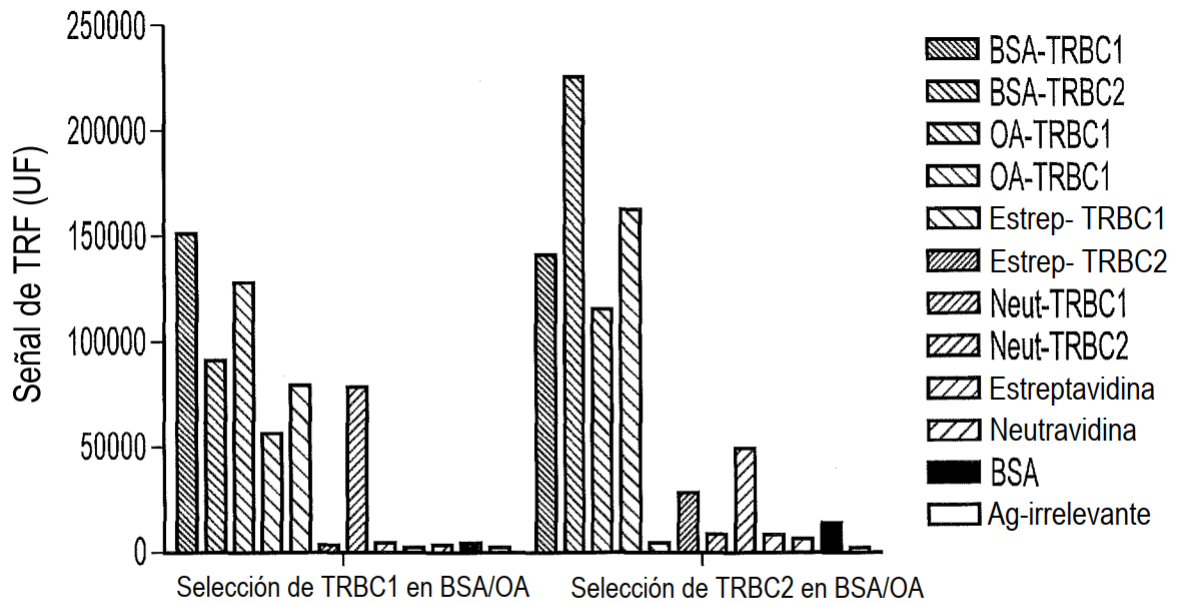
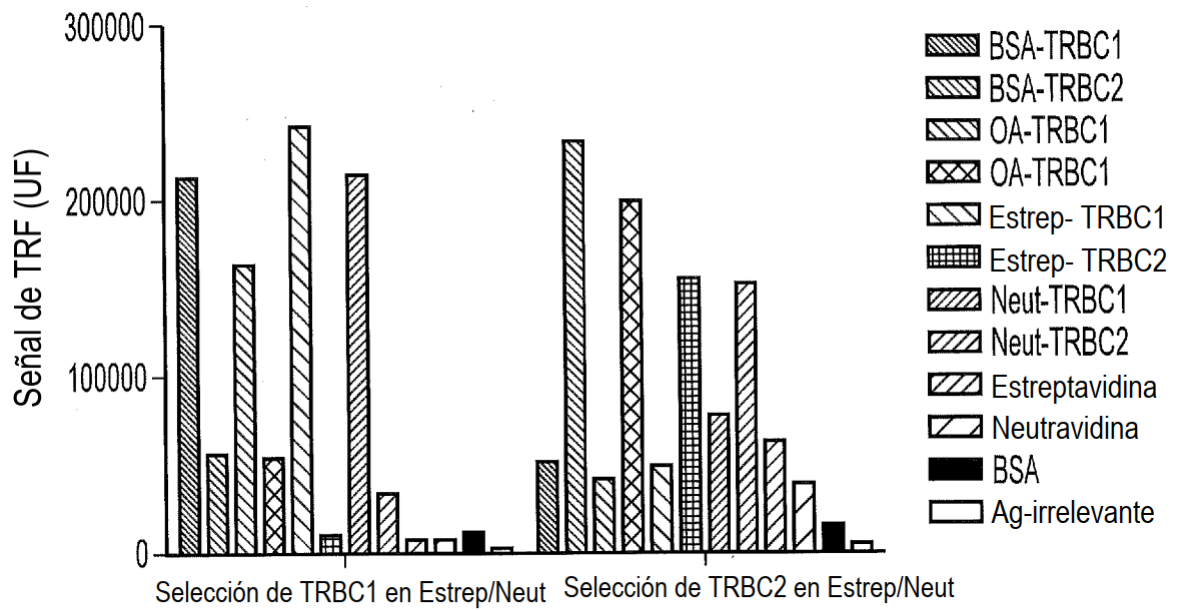


FIG. 21



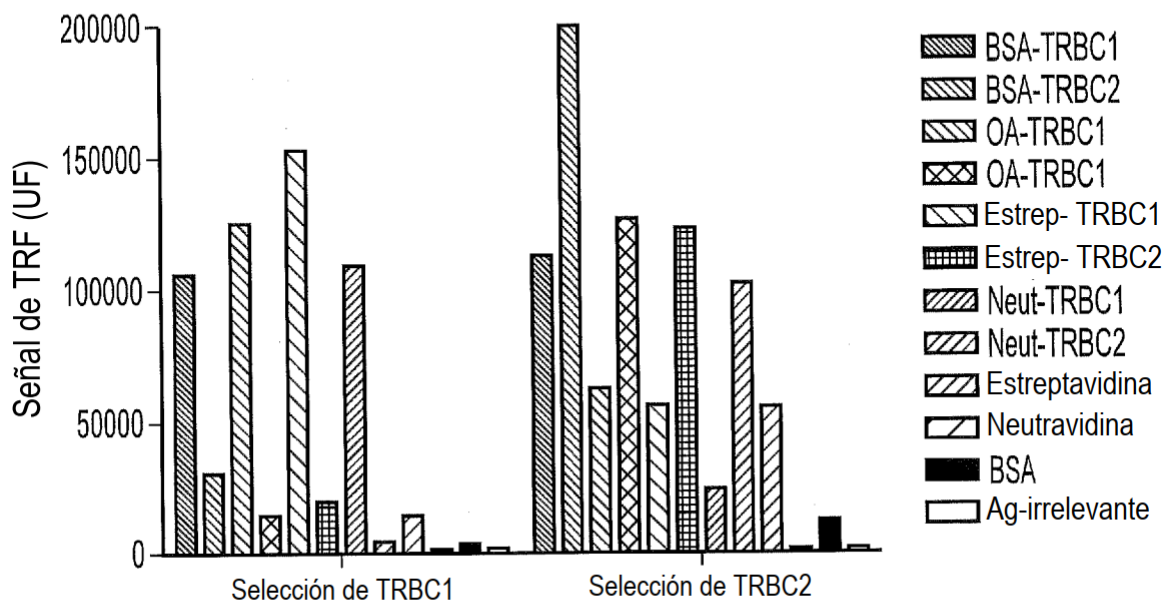
Selecciones en fase sólida: Inmovilización directa

FIG. 22A



Selecciones en fase sólida: Inmovilización indirecta

FIG. 22B



Selecciones en fase de solución

FIG. 22C

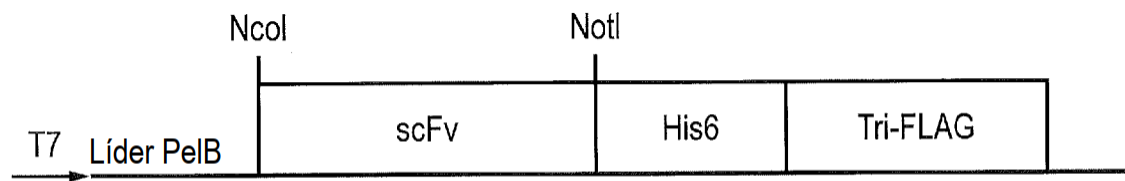


FIG. 23

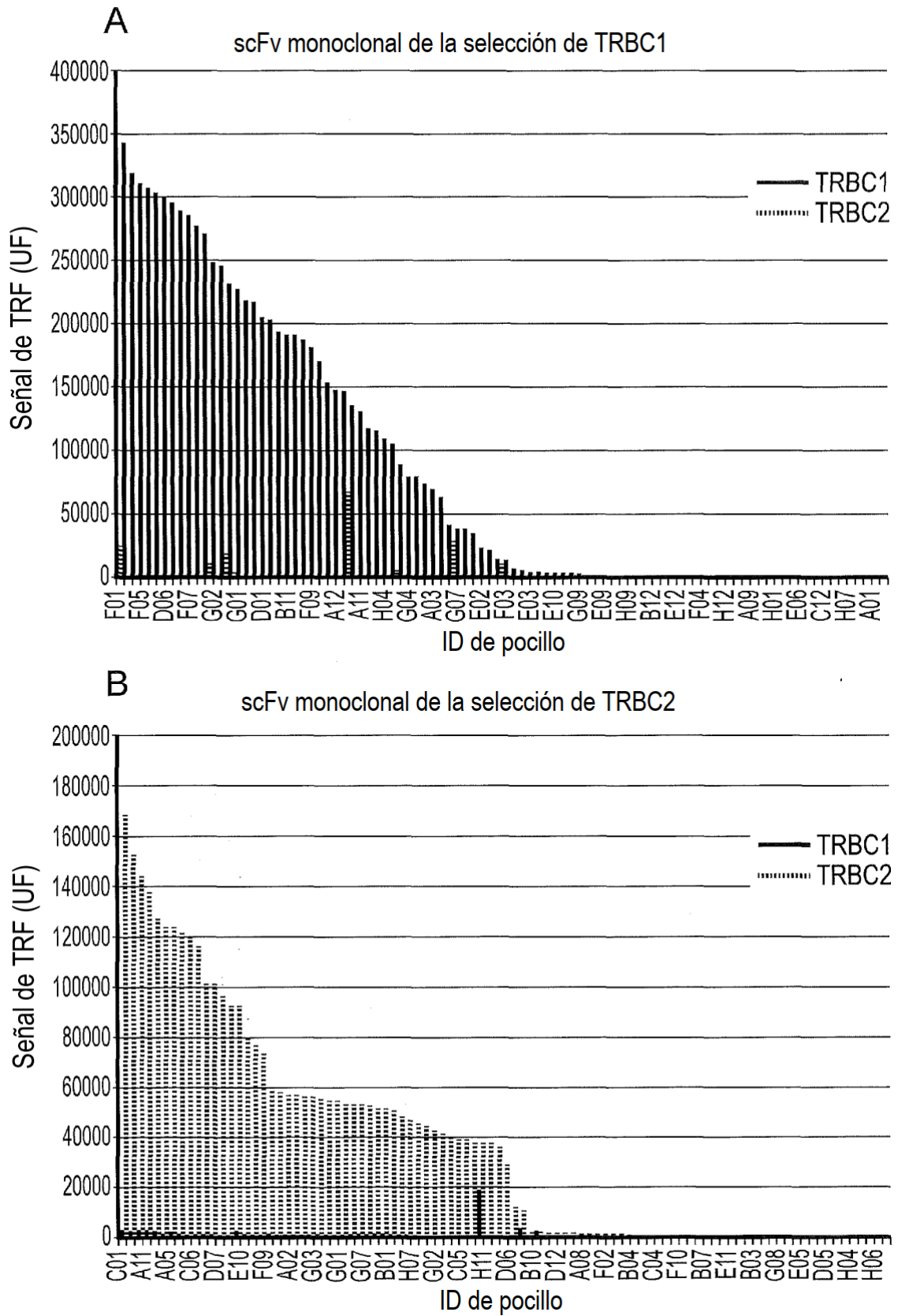


FIG. 24

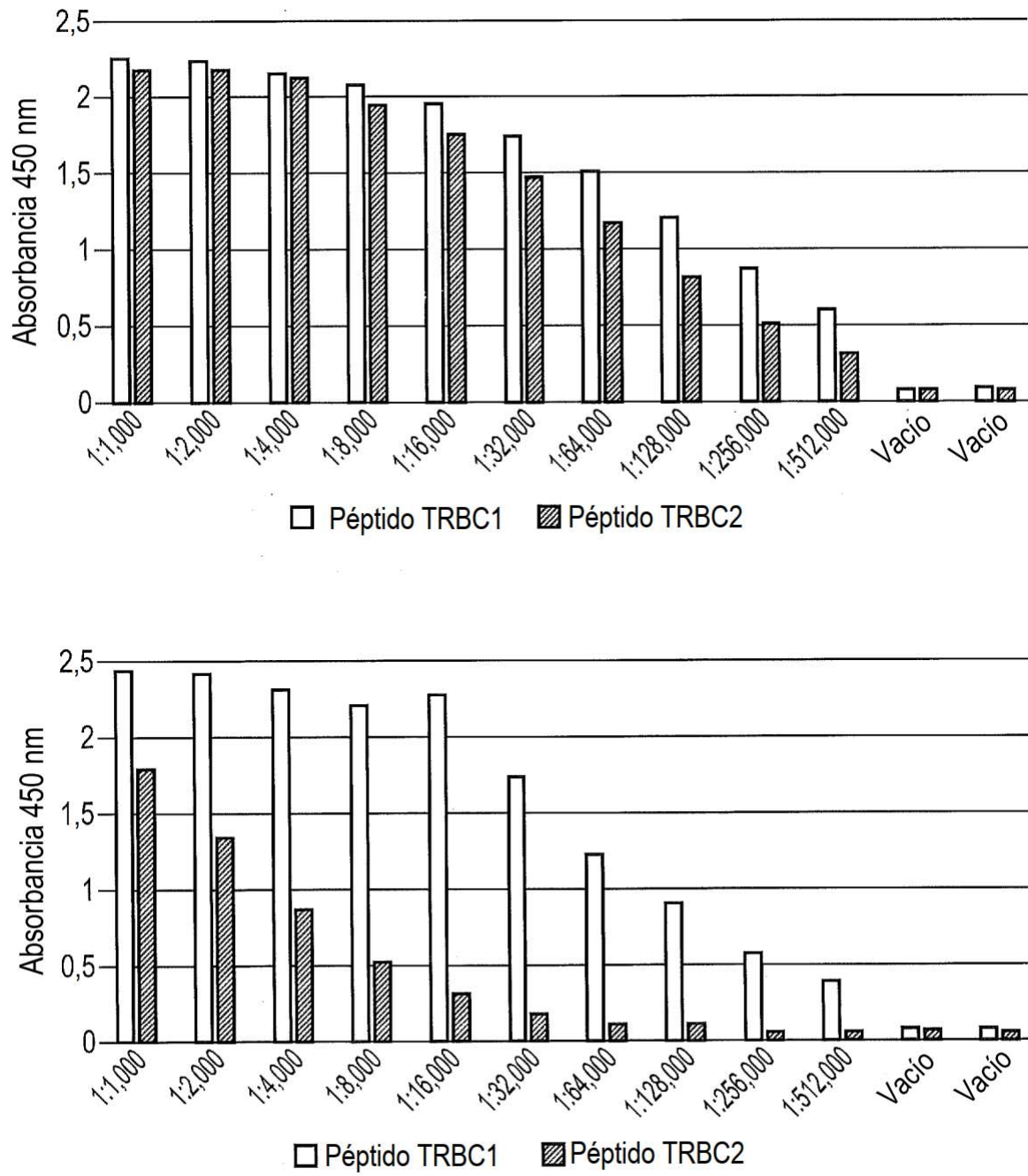


FIG. 25

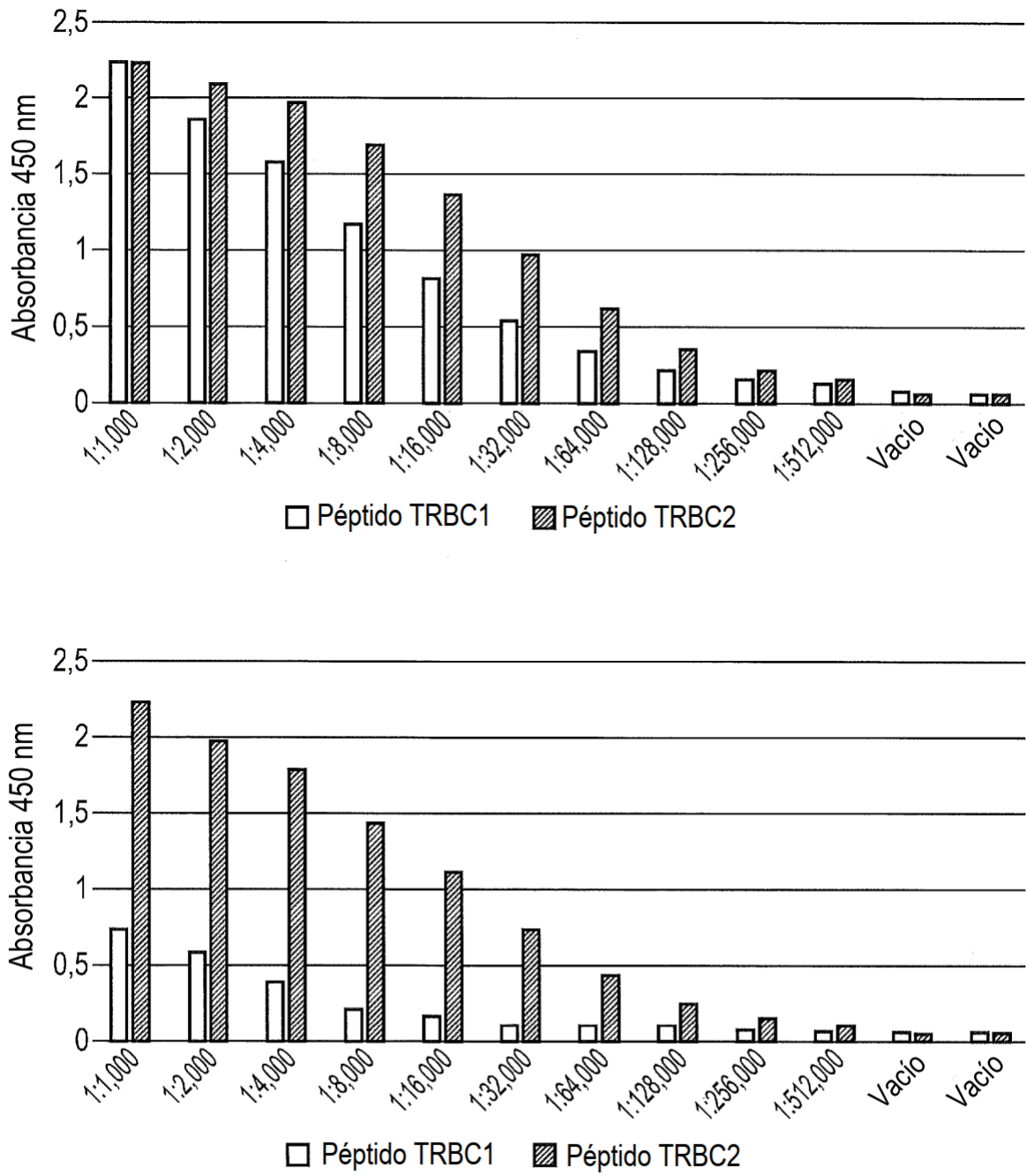


FIG. 26

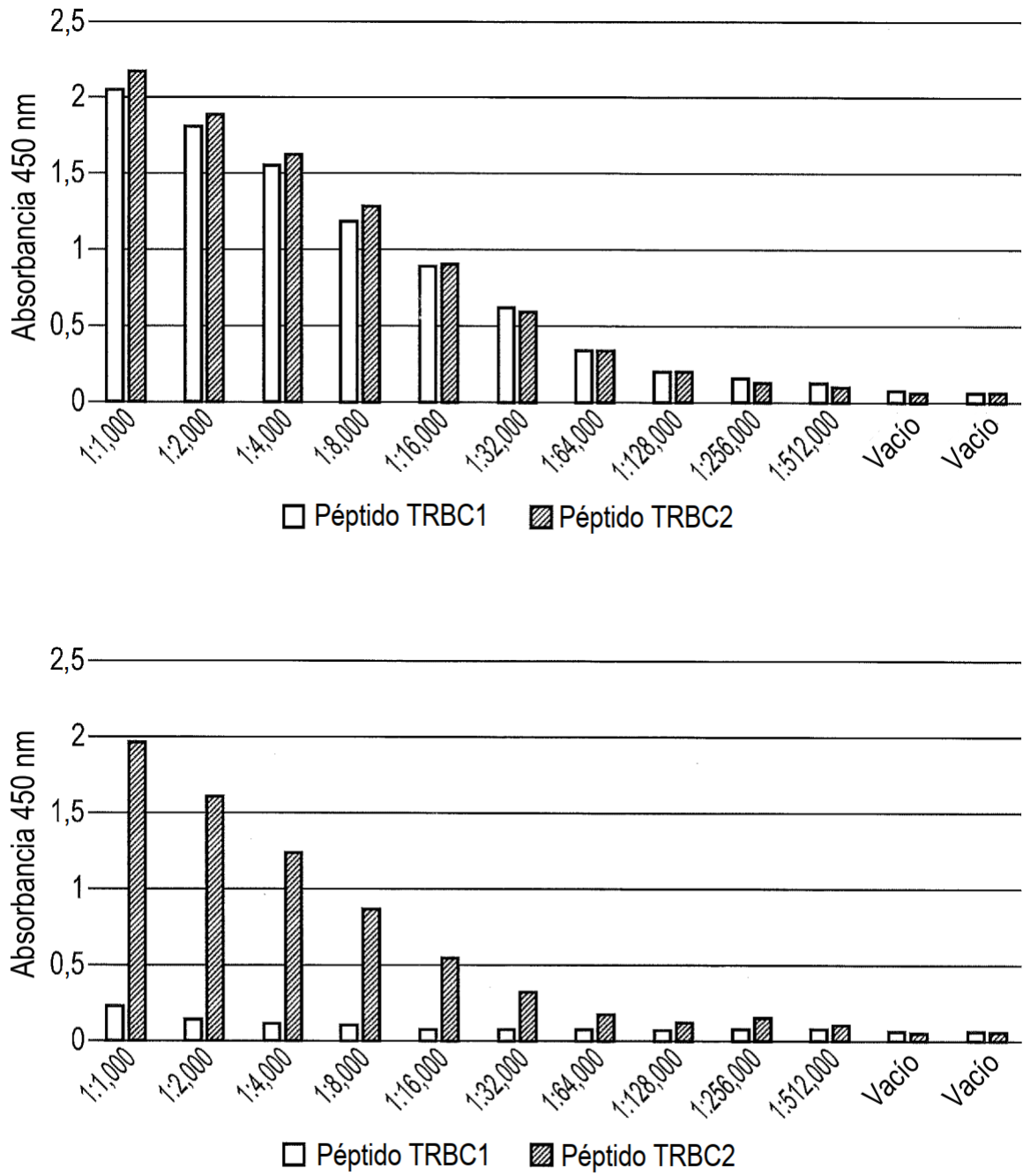


FIG. 27