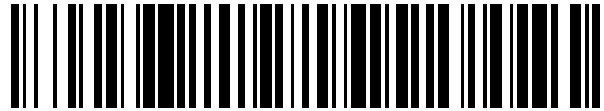


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 927 220**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/725** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.09.2019 PCT/US2019/053903**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2020 WO20072390**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2019 E 19790109 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.08.2022 EP 3833682**

54 Título: **Composiciones y procedimientos de módulos suicidas**

30 Prioridad:

**01.10.2018 US 201862739483 P**

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

**03.11.2022**

73 Titular/es:

**CARIBOU BIOSCIENCES, INC. (100.0%)  
2929 7th Street, Suite 105  
Berkeley, CA 94710, US**

72 Inventor/es:

**STENGEL, KATHARINA FRIEDERIKE SONJA**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

**ES 2 927 220 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

Composiciones y procedimientos de módulos suicidas

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a proteínas transmembrana quiméricas que comprenden uno o más módulos suicidas, en los que el módulo suicida comprende un dominio de unión a ligando seleccionado del grupo que consiste en un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, una porción de un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, un mimótopo de un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, y combinaciones de los mismos; y, un dominio transmembrana, células manipuladas que comprenden dichas proteínas transmembrana quiméricas, ligandos de anticuerpos para su uso en el tratamiento de los efectos de la EICH, el rechazo del huésped contra el injerto, el síndrome de liberación de citoquinas (CRS), la tormenta de citoquinas, y la reducción de las transformaciones oncogénicas de las células genéticamente modificadas administradas, así como un procedimiento de fabricación de una célula modificada para mejorar las toxicidades asociadas a las células que pueden ocurrir con las terapias celulares autólogas y alogénicas. Más concretamente, la presente invención se refiere a proteínas transmembrana quiméricas que comprenden módulos suicidas para tratar y/o prevenir la Enfermedad de Injerto contra Huésped y otros efectos secundarios indeseables de las terapias celulares, tales como el síndrome de liberación de citoquinas (CRS) y la neurotoxicidad.

20

**Antecedentes**

Las terapias de terapia celular adoptiva (ACT) y de trasplante de células madre (SCT) utilizan potentes células inmunitarias nativas o modificadas para tratar enfermedades tales como el cáncer. Estos tratamientos utilizan células de un paciente específico devueltas a ese paciente (terapia celular autóloga) o células de un tercer donante (terapia celular alogénica) para tratar al paciente.

25

Las terapias celulares alogénicas, tales como los trasplantes de médula ósea, los trasplantes de células madre, las terapias de células T alogénicas y las terapias de células T con receptores de antígenos quiméricos (CAR) alogénicos, se están convirtiendo rápidamente en tratamientos de vanguardia. Las terapias alogénicas tienen varias ventajas sobre las autólogas, tales como la posibilidad de administrar un mayor número de células, así como la administración de células más sanas y no agotadas. Sin embargo, las células de los donantes tienen serios inconvenientes. Por ejemplo, los pacientes que reciben trasplantes celulares alogénicos pueden sufrir la Enfermedad de Injerto contra Huésped (GvHD), que puede ser mortal. La GvHD está causada por genes únicos y polimorfos del antígeno leucocitario humano (HLA) de clase I presentes en cada individuo. Estos genes son reconocidos por los receptores de células T (TCR). Normalmente, cuando los genes HLA y los receptores de células T están perfectamente emparejados, existe autotolerancia inmunológica y no se produce la mortandad de las células. Por el contrario, la GvHD puede producirse cuando el donante y el receptor no son compatibles por sus genes HLA de clase I. En este caso, las células inmunitarias del donante atacan a las del receptor.

30

35

40

Para prevenir la GvHD en los trasplantes celulares alogénicos, el locus del receptor de células T  $\alpha$  constante (TRAC) que codifica la porción del receptor de células T que reconoce los genes HLA de clase I extraños puede interrumpirse utilizando varios procedimientos de edición de genes.

45

Del mismo modo, las células inmunitarias del paciente pueden atacar a las células alogénicas injertadas con MHC no coincidente y causarles mortandad. Esto se denomina "rechazo del Huésped contra el Injerto" Por lo tanto, la terapia puede fracasar porque el número de células injertadas puede reducirse gravemente por debajo de los niveles eficaces. Para prevenir el rechazo del huésped contra el injerto, el locus de la microglobulina  $\beta 2$  (B2M, beta-2 microglobulina) que codifica una proteína esencial en las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I en las células del donante puede ser interrumpido utilizando procedimientos de edición de genes con el fin de evitar la presentación de estas moléculas en la superficie de las células del trasplante y así prevenir el rechazo del injerto. Véase, por ejemplo, Gornalusse et al., Nat. Biotechnol. (2017) 35:765-772. Sin embargo, la alteración de la B2M hace que el trasplante de células adoptivas sea vulnerable a la mortandad por parte de las células asesinas naturales (NK) del huésped. Por lo general, las células están protegidas de la mortandad mediada por las células NK mediante la presentación de HLA-E (una molécula MHC de clase I) complejada con un péptido en la superficie celular. Sin embargo, HLA-E también forma un complejo con B2M para presentarse en la superficie celular. Para evitar la mortandad del injerto alogénico mediada por las células NK del huésped, pueden introducirse fusiones B2M/HLA-E de cadena única en las células alogénicas mediante un vector, o integrarse en el locus B2M endógeno, lo que da lugar a células deficientes en MHC de clase I que sólo presentan HLA-E en la superficie celular. Sin embargo, dado que estas células son ahora inmunes a la mortandad por parte del sistema inmunitario del receptor, pueden producirse otros efectos secundarios problemáticos de la terapia, tal como la GvHD residual, el síndrome de liberación de citoquinas (SRC), la tormenta de citoquinas, la neurotoxicidad o las transformaciones oncogénicas del injerto.

50

55

60

65

Para causar mortandad a las células injertadas a voluntad, se pueden diseñar interruptores suicidas, o módulos de agotamiento celular, en las células. Estos interruptores pueden ser activados por anticuerpos o pequeñas moléculas. Se han desarrollado varios de estos interruptores, incluyendo módulos de interruptores de mortandad independientes

y módulos de interruptores de mortandad acoplados a un casete de expresión CAR o al propio CAR. Véase, *por ejemplo*, Li et al., *Protein Cell* (2017) 8:573-589 Valton et al., *Scientific Reports* (2018) 8:8972. Uno de estos interruptores suicidas se basa en un mimótopo de CD20, una proteína de las células B que puede ser objeto del fármaco rituximab (Rituxan®, Genentech, South San Francisco, CA), un anticuerpo que se dirige a CD20. Este módulo suicida puede incorporarse a una proteína, tal como RQR8 (Philip et al., *Blood* (2014) 124:1277-1287 Quasim et al., *Science Translational Medicine* (2017) 9:374o en una constructo CAR (Valton et al., *Scientific Reports* (2018) 8:8972). Sin embargo, este módulo hace que las células portadoras de CAR sean vulnerables a la mortandad por rituximab, que se utiliza ampliamente en la terapia y, por lo tanto, es inadecuado en los pacientes sometidos a tratamiento con rituximab. El documento wO2016090320 describe un CAR que comprende un interruptor suicida con base en caspasa-9. Dichos CAR pueden ser proteínas transmembrana. El documentoWO2017181119 divulga un CAR transmembrana dirigido contra BCMA, cuyo CAR comprende también un interruptor suicida con base en la caspasa-9.

Además, un número significativo de células puede perder la expresión del interruptor suicida y seguir conservando el CAR en sistemas desacoplados. Además, en los sistemas acoplados, algunas constructos CAR pueden no ser modificables para la adición de módulos de interruptor suicida y pueden no conservar la actividad CAR.

Por lo tanto, se necesitan nuevos diseños de módulos suicidas para mejorar los efectos secundarios asociados con las terapias celulares adoptivas.

## 20 Sumario

La invención está definida por las reivindicaciones adjuntas. La presente invención se refiere a las proteínas transmembrana quiméricas que comprenden módulos suicidas y al uso de dichas proteínas para tratar y/o prevenir la Enfermedad de Injerto contra Huésped, el rechazo de Huésped contra Injerto y otras toxicidades celulares indeseables y efectos secundarios de las terapias celulares alogénicas. Las proteínas transmembrana quiméricas, las células modificadas, los ligandos y los procedimientos descritos en el presente documento pueden utilizarse para proporcionar tratamientos más eficaces, tales como en las aplicaciones de terapia celular, con menos efectos secundarios perjudiciales.

En un aspecto, se proporciona una proteína transmembrana quimérica. La proteína transmembrana quimérica comprende uno o más módulos suicidas, en los que el módulo suicida comprende un dominio de unión a ligando, y en los que el dominio de unión a ligando se selecciona del grupo un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, una porción del dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, un mimótopo de un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, y combinaciones de los mismos; y un dominio transmembrana. En ciertas realizaciones, el dominio de unión al ligando comprende los aminoácidos 6 a 41 de la SEQ ID NO:3 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 80 por ciento de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:3, y en la que el dominio de unión al ligando retiene la actividad de unión al ligando.

En otras realizaciones, la proteína transmembrana quimérica comprende además un dominio de membrana intracelular del antígeno de maduración de células B o un fragmento del mismo. En ciertas realizaciones, el dominio de membrana intracelular del antígeno de maduración de células B o un fragmento del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:4, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 80 por ciento de identidad de secuencia con SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 y SEQ ID NO:4.

En otra realización, la proteína transmembrana quimérica comprende un dominio transmembrana CD8.

En otras realizaciones, la proteína transmembrana quimérica comprende una secuencia enlazadora que une el dominio de unión al ligando con el dominio transmembrana.

En otras realizaciones, la secuencia enlazadora se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24 SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26 y SEQ ID NO:27.

En otras realizaciones, la proteína transmembrana quimérica comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50 y SEQ ID NO:51.

En otras realizaciones, la proteína transmembrana quimérica comprende además un receptor de antígeno quimérico, en el que el receptor de antígeno quimérico comprende un fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única y un dominio de señalización del receptor de antígeno quimérico.

En otras realizaciones, el módulo suicida está situado entre el fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única y el dominio de señalización del receptor de antígeno quimérico.

En otras realizaciones, el módulo suicida está situado en el terminal N del fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única y del dominio de señalización del receptor de antígeno quimérico.

En otras realizaciones, el fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única comprende un fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única anti-CD 19.

5 En otras realizaciones, un péptido de autodestrucción se sitúa entre el módulo suicida y el receptor de antígeno quimérico.

En otro aspecto, se proporciona una célula modificada que comprende la proteína transmembrana quimérica. En ciertas realizaciones, la célula manipulada es una célula T CAR.

10 En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para causar mortandad selectivamente de la célula manipulada. El procedimiento comprende la entrega a la célula manipulada de un ligando capaz de unirse al dominio de unión del ligando, lo que provoca la muerte de la célula. En una realización adicional, el ligando es un anticuerpo capaz de unirse al dominio de unión al ligando.

15 En otras realizaciones, el anticuerpo se conjuga con una molécula citotóxica, y la molécula conjugada anticuerpo-citotóxica se selecciona del grupo que consiste en GSK2857916, MEDI2228, AMG 224 y HDP-101.

20 Estos aspectos y otras realizaciones de la presente invención se les ocurrirán fácilmente a aquellos con conocimientos ordinarios en la técnica a la vista de la divulgación del presente documento.

### Breve Descripción de las Figuras

25 Las figuras que no corresponden a las reivindicaciones adjuntas se presentan únicamente a título ilustrativo. La FIG. 1A ilustra un CAR ejemplar. Las FIGS. 1B-1F ilustran constructos CAR ejemplares que comprenden módulos suicidas (SM) de la presente invención.

La FIG. 2A ilustra una proteína de fusión de beta-2 microglobulina (B2M) y antígeno de histocompatibilidad de clase I de cadena alfa E (HLA-E). Las FIGS. 2B-2F ilustran constructos ejemplares con base en B2M/HLA-E que comprenden módulos suicidas (SM) de la presente invención.

30 Las FIGS. 3A-3F ilustran módulos suicidas ejemplares con base en BCMA de la presente invención.

### Descripción Detallada de la Invención

35 La invención está definida por las reivindicaciones adjuntas. Debe entenderse que la terminología empleada en el presente documento tiene por objeto describir únicamente determinadas realizaciones. Tal y como se utiliza en la presente Memoria Descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "una célula T" incluye una población de una o más células T, y similares.

40 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por una persona con conocimientos ordinarios en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque en la práctica de la presente invención pueden utilizarse otros procedimientos y materiales similares, o equivalentes, a los descritos en el presente documento, los materiales y procedimientos preferidos se describen en el presente documento.

45 En vista de las enseñanzas de la presente Memoria Descriptiva, una persona con conocimientos ordinarios en la técnica puede aplicar técnicas convencionales de inmunología, bioquímica, química, biología molecular, microbiología, biología celular, genómica y polinucleótidos recombinantes, como se enseña, por ejemplo, en los siguientes textos estándar: Antibodies: A Laboratory Manual, Second edition, E. A. Greenfield, 2014, Cold Spring Harbor Laboratory Press, ISBN 978-1-936113-81-1 Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications, 6ª edición, R. I. Freshney, 2010, Wiley-Blackwell, ISBN 978-0-470-52812-9 Transgenic Animal Technology, tercera edición: A Laboratory Handbook, 2014, C. A. Pinkert, Elsevier, ISBN 978-0124104907; The Laboratory Mouse, segunda edición, 2012, H. Hedrich, Academic Press, ISBN 978-0123820082; Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual, 2013, R. Behringer, et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, ISBN 978-1936113019 PCR 2: A Practical Approach, 1995, M. J. McPherson, et al., IRL Press, ISBN 978-0199634248; Methods in Molecular Biology (Series), J.M. Walker, ISSN 1064-3745, Humana Press ARN: A Laboratory Manual, 2010, D. C. Rio, et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, ISBN 978-0879698911; Methods in Enzymology (Series), Academic Press; Molecular Cloning: A Laboratory Manual (cuarta edición), 2012, M. R. Green, et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, ISBN 978-1605500560 Bioconjugate Techniques, Third Edition, 2013, G. T. Hermanson, Academic Press, ISBN 978-0123822390 Methods in Plant Biochemistry and Molecular Biology, 1997, W. V. Dashek, CRC Press, ISBN 978-0849394805.

### Definiciones

65 Los términos "módulo suicida", "interruptor suicida" e "interruptor de seguridad" se utilizan indistintamente en el presente documento y se refieren a una molécula, tal como un polipéptido que comprende un dominio de unión al

ligando que permite la destrucción selectiva de las células transferidas adoptivamente. Por ejemplo, una célula adoptiva puede ser modificada genéticamente para incluir uno o más módulos suicidas que provoquen la muerte de la célula cuando se exponga a condiciones seleccionadas. Se conocen varios tipos de módulos suicidas e incluyen módulos suicidas que se activan por condiciones metabólicas; módulos que se inducen por dimerización; y módulos que se activan por anticuerpos monoclonales seleccionados. En algunas realizaciones, un módulo suicida comprende al menos un dominio de unión al ligando, así como un dominio transmembrana que ancla el dominio de unión al ligando a la membrana celular. Dichos módulos suicidas se describen en detalle en el presente documento. Un "gen suicida" codifica una proteína que posee una capacidad inducible para provocar la muerte celular y puede incorporarse a una constructo polinucleotídica para producir un módulo suicida.

Por "dominio de unión al ligando", en el contexto de un módulo suicida, se entiende un péptido presentado en la superficie de una célula adoptiva que es capaz de unir selectivamente un ligando afín, tal como un anticuerpo o un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC), en el que cuando el anticuerpo o el ADC se unen al dominio de unión al ligando, se produce la muerte de la célula adoptiva. Por lo tanto, un epítipo es un tipo de dominio de unión al ligando y se describe más adelante en el presente documento.

Por "ligando" se entiende una molécula capaz de unirse a un dominio de unión de ligando. Los ligandos son un ligando que puede unirse a un determinado dominio de unión del ligando que tiene actividad de unión para ese dominio. Un ligando suele tener una afinidad con el dominio de unión del ligando. Las afinidades de los ligandos por los dominios de unión de ligandos pueden ser de baja, media o alta afinidad. Las afinidades de los ligandos por los dominios de unión de los ligandos pueden medirse, por ejemplo, con la calorimetría de titulación isotérmica (ITC), la clasificación celular asistida por fluorescencia (FACS), la resonancia de plasmón superficial (SPR), la resonancia magnética nuclear (RMN) y otras técnicas conocidas.

Por "célula adoptiva" se entiende una célula que puede ser modificada genéticamente para su uso en un tratamiento de terapia celular, tal como para tratar el cáncer y/o prevenir la GvHD y otros efectos secundarios indeseables de las terapias celulares, tales como, pero no limitados a, la tormenta de citoquinas, las transformaciones oncogénicas del material genéticamente modificado administrado, los trastornos neurológicos, y similares. Las células adoptivas incluyen, entre otras, las células madre, las células madre pluripotentes inducidas (iPSC), las células madre de la sangre del cordón umbilical, los linfocitos, los macrófagos, los glóbulos rojos, los fibroblastos, las células endoteliales, las células epiteliales y las células precursoras del páncreas.

Por "terapia celular" se entiende el tratamiento de una enfermedad o trastorno que utiliza células modificadas genéticamente. Las modificaciones genéticas pueden introducirse utilizando los procedimientos descritos en el presente documento, tales como los procedimientos que comprenden vectores virales, nucleofección, entrega de pistolas de genes, sonoporación, exprimido de células, lipofección, o el uso de otros productos químicos, péptidos que penetran en las células, y similares.

Por "terapia celular adoptiva" o "ACT" se entiende una terapia que utiliza células adoptivas modificadas genéticamente derivadas de un paciente específico devueltas a ese paciente (terapia celular autóloga) o de un tercero donante (terapia celular alogénica), para tratar al paciente. Los ACT incluyen, entre otros, los trasplantes de médula ósea, los trasplantes de células madre, las terapias con células T, las terapias con células T CAR y las terapias con células asesinas naturales (NK).

Por "linfocito" se entiende un leucocito (glóbulo blanco) que forma parte del sistema inmunitario de los vertebrados. El término "linfocito" también engloba a las células madre hematopoyéticas que dan lugar a las células linfoides. Los linfocitos incluyen células T para la inmunidad adaptativa citotóxica mediada por células, tal como las células T citotóxicas CD4+ y/o CD8+; células T alfa/beta y células T gamma/delta; células T reguladoras, tales como las células Treg; células NK que funcionan en la inmunidad innata citotóxica mediada por células; células B, para la inmunidad adaptativa humoral impulsada por anticuerpos; células NK/T; células asesinas inducidas por citocinas (células CIK); y células presentadoras de antígenos (APC), tales como las células dendríticas. Un linfocito puede ser una célula de mamífero, tal como una célula humana.

El término "linfocito" también abarca las células T y las células NK modificadas genéticamente para producir receptores antigénicos quiméricos (CAR) en la superficie de las células T o NK (células T CAR y células CAR-NK). Estas células T CAR reconocen antígenos solubles específicos o antígenos en la superficie de una célula objetivo, tal como la superficie de una célula tumoral, o en células del microambiente tumoral. Un CAR puede comprender uno o más dominios de unión al ligando extracelular, una región bisagra, una región transmembrana y una región de señalización intracelular. El dominio de unión del ligando extracelular comprende típicamente un fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única, (scFv) u otro dominio de unión del ligando, tal como un ligando proteico natural. La región bisagra generalmente comprende una bisagra polipeptídica de longitud variable tal como uno o más aminoácidos, una región CD8 alfa o una región IgG4 (u otras), y combinaciones de las mismas. El dominio transmembrana suele contener una región transmembrana derivada de CD8 alfa, CD28 u otras proteínas transmembrana tales como DAP10, DAP12 o NKG2D, y combinaciones de las mismas. El dominio de señalización intracelular consiste en uno o más dominios de señalización intracelular tal como CD28, 4-1BB, CD3 zeta, OX40, 2B4, u otros dominios de señalización intracelular, y combinaciones de los mismos. Cuando el dominio de unión del ligando

extracelular se une a un ligando afín, el dominio de señalización intracelular del CAR activa el linfocito. Véase, por ejemplo, Brudno et al., Nature Rev. Clin. Oncol. (2018) 15:31-46 Maude et al., N. Engl. J. Med. (2014) 371:1507-1517 Sadelain et al., Cancer Disc. (2013) 3:388-398 (2018) Patente de EE.UU. Nos. 7.446.190 y EE.UU. 8.399.645 para las descripciones de las células T CAR, los procedimientos de fabricación de las mismas y usos de los mismos. Para ver objetivos celulares ejemplares y las proteínas de unión a scFvs CAR que se dirigen a los objetivos celulares ejemplares, véase la Tabla 1.

**Tabla 1:** Lista de objetivos celulares ejemplares y proteínas de unión a scFv CAR que se dirigen a los objetivos celulares ejemplares

Objetivo celular	Proteína CAR scFv/de unión
CD19	anti-CD 19
CD20	anti-CD20
CD22	anti-CD22
CD30	anti-CD30
CD33	anti-CD33
CD138	anti-CD 13 8
CD171/L1CAM	anti-CD171
CEA	anti-CEA
CD 123	anti-CD 123
Receptor IL13 Alfa	IL13
Receptor del factor de crecimiento epidérmico	anti-receptor del factor de crecimiento epidérmico
EGFRvIII	anti-EGFRvIII
ErbB	anti-ErbB
FAP	anti-FAP
GD2	anti-GD2
Glypican 3	anti-Glypican 3
Her2	anti-Her2
Mesotelina	anti-Mesotelina
Proteínas ULBP y MICA/B	NKG2D
PD1	anti-PD1
MUC1	anti-MUC1
VEGF2	anti-VEGF2
SLAMF7	anti-SLAMF7
BCMA	anti-BCMA
WT1	anti-WT1
MUC16	anti-MUC1 6
LewisY/LeY	anti-LeY
FLT3	Ligando FLT3/anti-FLT3
ROR1	anti-ROR1

También se incluyen en el término "linfocito", tal como se utiliza en el presente documento, las células T diseñadas con receptores de células T (TCR), modificadas genéticamente para expresar uno o más receptores de células T específicos, naturales o diseñados, que pueden reconocer antígenos proteicos o (glico)lipídicos de las células objetivo presentados por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). Pequeños fragmentos de estos antígenos, tales como péptidos o ácidos grasos, se trasladan a la superficie de la célula objetivo y se presentan a los receptores de las células T como parte del MHC. La unión del receptor de la célula T a los MHC cargados de antígeno activa el linfocito.

Los linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) también se engloban en el término "linfocito", tal y como se utiliza en el presente documento. Las TIL son células inmunitarias que han penetrado en el entorno de un tumor y sus alrededores ("el microentorno tumoral"). Los TIL se aíslan típicamente de las células tumorales y del microambiente del tumor y se seleccionan *in vitro* por su alta reactividad contra los antígenos tumorales. Las TIL se cultivan *in vitro* bajo condiciones que superan las influencias tolerantes que existen *in vivo* y luego se introducen en un sujeto para su tratamiento.

Los CAR también pueden incorporarse a los TIL, células NK o TCR, dando lugar a los CAR-TIL, células CAR-NK o células T CAR modificadas con TCR.

5 Tal y como se utiliza en el presente documento, "célula madre" se refiere a una célula que tiene la capacidad de autorrenovación, es decir, la capacidad de pasar por numerosos ciclos de división celular manteniendo el estado indiferenciado. Las células madre pueden ser totipotentes, pluripotentes, multipotentes, oligopotentes o unipotentes. Las células madre son embrionarias, fetales, amnióticas, adultas o pluripotentes inducidas.

10 Tal y como se utiliza en el presente documento, "células madre pluripotentes inducidas" o las iPSC, se refiere a un tipo de célula madre pluripotente que se deriva artificialmente de una célula no pluripotente, típicamente una célula somática adulta, induciendo la expresión de genes específicos.

15 Tal como se utiliza aquí, "célula madre hematopoyética" se refiere a una célula indiferenciada que tiene la capacidad de diferenciarse en una célula hematopoyética, tal como un linfocito.

20 Los términos "sujeto", "individuo" o "paciente" se utilizan indistintamente en el presente documento y se refieren a cualquier miembro del filo Chordata, incluyendo, sin limitación, a los seres humanos y otros primates, incluyendo los primates no humanos tal como los macacos rhesus, los chimpancés y otras especies de monos y simios; los animales de granja, tal como el ganado vacuno, las ovejas, los cerdos, las cabras y los caballos; los mamíferos domésticos, tales como los perros y los gatos; los animales de laboratorio, tal como los conejos, los ratones, las ratas y los conejillos de Indias; las aves, incluyendo las domésticas, las silvestres y las de caza, tales como las gallinas, los pavos y otras gallináceas, los patos y los gansos; y similares. El término no denota una edad o un género en particular. Así, el término incluye a individuos adultos, jóvenes y recién nacidos, así como a machos y hembras. En algunas realizaciones, una célula huésped se deriva de un sujeto (por ejemplo, linfocitos, células madre, células progenitoras o células específicas de un tejido). En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto no humano.

30 Los términos "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" de una composición o agente, tal como una célula adoptiva modificada genéticamente como se proporciona en el presente documento, se refieren a una cantidad suficiente de la composición o agente para proporcionar la respuesta deseada, tal como para prevenir o eliminar uno o más efectos secundarios perjudiciales asociados con las terapias celulares adoptivas alogénicas. Dichas respuestas dependerán de la enfermedad concreta de que se trate. Por ejemplo, en un paciente que está siendo tratado por cáncer utilizando una terapia celular adoptiva, una respuesta deseada incluye, pero no se limita a, el tratamiento o la prevención de los efectos de la GvHD, el rechazo del Huésped contra el Injerto, el síndrome de liberación de citoquinas (CRS), la tormenta de citoquinas, y la reducción de las transformaciones oncogénicas de las células genéticamente modificadas administradas. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad y el estado general del sujeto, la gravedad de la afección que se esté tratando y el linfocito modificado concreto que se utilice, el modo de administración, etc. Una cantidad "efectiva" apropiada en cualquier caso individual puede ser determinada por un experto en la técnica utilizando la experimentación rutinaria.

40 El "tratamiento" o "tratar" una enfermedad particular, tal como condición cancerosa, o enfermedad de Injerto contra Huésped, incluye: prevenir la enfermedad, por ejemplo, prevenir el desarrollo de la enfermedad o hacer que la enfermedad ocurra con menos intensidad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no experimenta o muestra síntomas de la enfermedad; inhibir la enfermedad, por ejemplo, reducir la tasa de desarrollo, detener el desarrollo o revertir el estado de la enfermedad; y/o aliviar los síntomas de la enfermedad, por ejemplo, disminuir el número de síntomas experimentados por el sujeto.

50 Los términos "modificado", "ingeniería genética", "modificado genéticamente", "recombinante", "modificado" y "de origen no natural" indican la manipulación humana intencionada del genoma de un organismo o célula. Los términos abarcan los procedimientos de modificación genómica que incluyen la edición genómica, tal como se define en el presente documento, así como las técnicas que alteran la expresión o inactivación de los genes, la ingeniería enzimática, la evolución dirigida, el diseño basado en el conocimiento, los procedimientos de mutagénesis aleatoria, el barajado de genes, la optimización de codones y similares. Los procedimientos de ingeniería genética son conocidos en la técnica.

55 Por "edición de genes" o "edición del genoma", tal y como se utiliza en el presente documento, se entiende un tipo de ingeniería genética que da lugar a una modificación genética, tal como la inserción, la supresión o la sustitución de una secuencia de nucleótidos, o incluso de una sola base, en un sitio específico del genoma de una célula. Los términos incluyen, sin limitación, la expresión génica heteróloga, la inserción o delección de genes o promotores, la mutación de ácidos nucleicos y una modificación genética disruptiva, como se define en el presente documento.

60 Tal y como se utilizan en el presente documento, los términos "péptido", "polipéptido" y "proteína" son intercambiables y se refieren a polímeros de aminoácidos. Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "aminoácido" se refiere a los aminoácidos naturales y sintéticos (no naturales), incluyendo las variantes de aminoácidos, los aminoácidos modificados, los peptidomiméticos, la glicina y los isómeros ópticos D o L. Un polipéptido puede tener cualquier longitud. Puede ser ramificado o lineal, puede estar interrumpido por no aminoácidos y puede comprender aminoácidos modificados. Los términos pueden utilizarse para referirse a un polímero de aminoácidos que ha sido

modificado mediante, por ejemplo, acetilación, formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, fosforilación, entrecruzamiento y/o conjugación (por ejemplo, con un componente de etiquetado o ligando). Las secuencias polipeptídicas se muestran en el presente documento en la orientación convencional de terminal N a terminal C.

5 No es necesario que el polipéptido incluya la secuencia de aminoácidos de longitud completa de la molécula de referencia, sino que puede incluir sólo la parte de la molécula que sea necesaria para que el polipéptido funcione según lo previsto, por ejemplo, para unirse a un anticuerpo afín. Así, sólo es necesario que haya uno o pocos epítomos de la molécula de referencia. Además, el polipéptido puede comprender una proteína de fusión entre la molécula de referencia de longitud completa o un fragmento de la molécula de referencia y otra proteína que no altere la reactividad prevista, por ejemplo, del módulo suicida. Por lo tanto, es evidente que el polipéptido puede comprender la secuencia completa, fragmentos, secuencias truncadas y parciales, así como variantes y formas precursoras de la molécula de referencia. El término también se refiere a las supresiones, adiciones y sustituciones de la secuencia de referencia, siempre que el polipéptido conserve la inmunorreactividad.

10 Por lo tanto, las proteínas de longitud completa y fragmentos de los mismos, así como las proteínas con modificaciones, tales como supresiones, adiciones y sustituciones (ya sea de naturaleza conservadora o no conservadora), a la secuencia nativa, están destinadas a ser utilizadas en el presente documento, siempre y cuando la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como a través de la mutagénesis dirigida al sitio, o pueden ser accidentales, tal como a través de mutaciones de los anfitriones, que producen las proteínas o errores debido a la amplificación de la PCR. En consecuencia, se contempla en el presente documento el uso de proteínas activas sustancialmente homólogas a la secuencia madre, *por ejemplo*, proteínas con una identidad del 70...80...85...90...95...98...99 %, etc., que conservan la actividad deseada.

15 La identidad de secuencia entre dos secuencias polinucleotídicas o dos secuencias polipeptídicas se calcula generalmente utilizando los parámetros estándar por defecto de los diversos procedimientos o programas informáticos. Un alto grado de identidad de secuencia, tal y como se utiliza en el presente documento, entre dos polinucleótidos o dos polipéptidos está típicamente entre 90 % de identidad y 100 % de identidad, por ejemplo, 90 % de identidad o más, preferiblemente 95 % de identidad o más, más preferiblemente 98 % de identidad o más. Un grado moderado de identidad de secuencia, tal y como se utiliza en el presente documento, entre dos polinucleótidos o dos polipéptidos suele estar comprendido entre aproximadamente 80 % de identidad a aproximadamente 89 % de identidad, por ejemplo, aproximadamente 80 % de identidad o más, preferiblemente aproximadamente 85 % de identidad. Un grado bajo de identidad de secuencia, tal como se utiliza en el presente documento, entre dos polinucleótidos o dos polipéptidos se sitúa típicamente entre aproximadamente 50 % de identidad a aproximadamente 79 % de identidad, por ejemplo, aproximadamente 50 % de identidad, preferiblemente aproximadamente 60 % de identidad, más preferiblemente aproximadamente 75 % de identidad. Por ejemplo, un dominio de unión al ligando (*por ejemplo*, un dominio BCMA que comprende sustituciones de aminoácidos) puede tener un bajo grado de identidad de secuencia, un grado moderado de identidad de secuencia o un alto grado de identidad de secuencia, a lo largo de su longitud, con una proteína BCMA de referencia (*por ejemplo*, una BCMA de tipo silvestre).

20 El término "variante" se refiere a los derivados de la molécula de referencia que conservan la actividad deseada, o a los fragmentos de dichos derivados que conservan la actividad, como se ha descrito anteriormente. En general, el término "variante" se refiere a compuestos que tienen una secuencia y estructura polipeptídica nativa con una o más adiciones, sustituciones y/o supresiones de aminoácidos, en relación con la molécula nativa. Los análogos particularmente preferidos incluyen sustituciones que son de naturaleza conservadora, es decir, aquellas sustituciones que tienen lugar dentro de una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas laterales. En concreto, los aminoácidos se dividen generalmente en cuatro familias: (a) ácidos -- aspartato y glutamato; (b) básicos -- lisina, arginina, histidina; (c) no polares -- alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano; y (d) polares sin carga -- glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina. La fenilalanina, el triptófano y la tirosina se clasifican a veces como aminoácidos aromáticos. Por ejemplo, es razonablemente predecible que una sustitución aislada de leucina por isoleucina o valina, de un aspartato por un glutamato, de una treonina por una serina, o una sustitución conservadora similar de un aminoácido por un aminoácido estructuralmente relacionado, no tendrá un efecto importante en la actividad biológica. El polipéptido de interés puede incluir hasta aproximadamente 5-10 sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras, o incluso hasta aproximadamente 15-25 o 50 sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras, o cualquier número entre 5-50, siempre que la función deseada de la molécula permanezca intacta.

25 Los polipéptidos y polinucleótidos descritos en el presente documento pueden fabricarse utilizando técnicas rutinarias en el campo de la biología molecular (*véanse*, por ejemplo, los textos estándar comentados anteriormente). Además, se puede pedir a medida cualquier polipéptido o polinucleótido de fuentes comerciales.

30 Por "epítomo" se entiende un sitio en una molécula al que responden células B y células T específicas. Un epítomo puede comprender 3 o más aminoácidos en una conformación espacial única para el epítomo. Por lo general, un epítomo consiste en al menos 5 aminoácidos de este tipo y, más habitualmente, de al menos 8-10 aminoácidos. Los procedimientos para determinar la conformación espacial de los aminoácidos son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, la cristalografía de rayos X y la resonancia magnética nuclear bidimensional. Además, la identificación

de epítomos en una proteína determinada se realiza fácilmente mediante técnicas bien conocidas en la técnica, tal como el uso de estudios de hidrofobicidad y la serología dirigida al sitio.

5 Un "mimótopo" es una macromolécula, tal como un péptido, que imita la estructura de un epítomo. Debido a esta propiedad, puede provocar una respuesta de anticuerpos similar a la provocada por el epítomo. Un anticuerpo para un determinado antígeno epitópico reconocerá un mimotopo que imita ese epítomo. Los mimotopos se obtienen comúnmente a partir de bibliotecas de visualización de fagos mediante biopaneos.

10 Un "anticuerpo" es una molécula que "reconoce", es decir, se une específicamente a un epítomo de interés presente en un polipéptido, tal como un dominio de unión a un ligando. Por "se une específicamente" se entiende que el anticuerpo interactúa con el epítomo en una interacción del tipo "cerradura y llave" para formar un complejo entre el antígeno y el anticuerpo. El término "anticuerpo", tal como se utiliza en el presente documento, incluye los anticuerpos obtenidos a partir de preparaciones monoclonales, así como, los siguientes moléculas de anticuerpos híbridos (quiméricos); fragmentos F(ab')<sub>2</sub> y F(ab); moléculas Fv (heterodímeros no covalentes; moléculas Fv de cadena única (scFv); constructos de fragmentos de anticuerpos diméricos y triméricos; minicuerpos; moléculas de anticuerpos humanizados; anticuerpos de cadena única; nanocuerpos cameloides; y cualquier fragmento funcional obtenido a partir de dichas moléculas, en los que dichos fragmentos conservan las propiedades de unión inmunológica de la molécula de anticuerpo madre. Los anticuerpos pueden proceder de diferentes especies, tal como el ser humano, el ratón, la rata, el conejo, el camello, el pollo, etc. Los anticuerpos y las partes de anticuerpos pueden obtenerse posteriormente mediante técnicas *in vitro*, como la visualización de fagos y la visualización de levaduras. Los anticuerpos totalmente humanizados pueden obtenerse a partir de plasma humano, clonación de células B humanas, ratón, rata, conejo, pollo, etc., que tienen un repertorio de células B humanizado diseñado. A continuación, los anticuerpos pueden modificarse aún más mediante la maduración por afinidad y otros procedimientos, tal como la afucosilación o la ingeniería Fc de las IgG.

25 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "anticuerpo monoclonal" se refiere a una composición de anticuerpos que tiene una población de anticuerpos homogénea. El término no está limitado en cuanto a la especie o la fuente del anticuerpo, ni pretende estarlo por la forma en que se fabrica. El término abarca inmunoglobulinas enteras, así como fragmentos como Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv y otros fragmentos, así como poblaciones de anticuerpos quiméricos y humanizados homogéneos, que presentan propiedades de unión inmunológica de la molécula de anticuerpo monoclonal madre.

30 La "citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC)", también denominada "citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos", se refiere a un mecanismo por el que una célula efectora del sistema inmunitario genera lisis activamente de una célula objetivo, como una célula adoptiva, cuando un dominio de unión al ligando de la superficie de la membrana ha sido unido por un anticuerpo específico. Las células efectoras suelen ser células asesinas naturales (NK). Sin embargo, los macrófagos, neutrófilos y eosinófilos también pueden mediar la ADCC. La ADCC es independiente de la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), que también genera lisis de los objetivos dañando las membranas sin la participación de anticuerpos o células del sistema inmunitario.

40 Por un "conjugado anticuerpo-fármaco (ADC)" se entiende un anticuerpo, tal como un anticuerpo monoclonal, conjugado con una molécula o un fármaco biológicamente activo, típicamente por un enlazador químico con enlaces lábiles. Combinando la orientación única de un anticuerpo monoclonal con un fármaco citotóxico, los ADC pueden dirigirse selectivamente a las células adoptivas que incluyen un dominio de unión al ligando que interactúa con la porción del anticuerpo del ADC. Tras la unión del ligando por el dominio de unión al ligando, la célula adoptiva absorbe o internaliza el anticuerpo junto con la citotoxina. Tras la internalización del ADC, el fármaco citotóxico se libera y causa mortandad a la célula.

50 Los términos "proteína de fusión" y "proteína quimérica", tal y como se utilizan en el presente documento, se refieren a una única proteína creada mediante la unión de dos o más proteínas, dominios de proteínas o fragmentos de proteínas que no se encuentran juntos de forma natural en una única proteína. Las proteínas quiméricas pueden comprender las secuencias de longitud completa de las proteínas de origen, una o más secuencias parciales de las proteínas de origen, una o más duplicaciones de secuencias de proteínas de origen, y cualquier combinación de las mismas. Algunas proteínas quiméricas pueden ser híbridos de proteínas o fragmentos de proteínas de tipo silvestre con secuencias polipeptídicas artificiales. Algunas proteínas quiméricas pueden comprender secuencias enlazadoras artificiales. Algunas proteínas quiméricas pueden comprender un dominio extracelular (ECD) de una proteína, un dominio transmembrana (TM) de una segunda proteína y un dominio intracelular (ICD) de una tercera proteína. Ejemplos conocidos de proteínas quiméricas artificiales son los receptores antigénicos quiméricos (CAR), las fusiones B2M/HLA-E de cadena única. Las proteínas quiméricas pueden tener uno o más dominios transmembrana de una o más proteínas de origen.

65 El término "dominio transmembrana", tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a un dominio proteico que es típicamente hidrófobo y está incrustado en una membrana celular. Los dominios transmembrana pueden predecirse mediante programas bioinformáticos (por ejemplo, Expasy, World Wide Web: Expasy.org). Los dominios transmembrana pueden estar formados por hélices alfa o por barriles beta. Las proteínas que contienen un único dominio transmembrana se denominan de Tipo I, II, III y IV en función de la topología de los extremos N y C en los

dos lados de la bicapa lipídica. Las "proteínas transmembrana quiméricas", tal como se utilizan en el presente documento, son proteínas de fusión que comprenden uno o más dominios transmembrana y uno o más módulos suicidas.

5 Algunas proteínas quiméricas pueden comprender un péptido de autodestrucción, tal como un péptido 2A. Después de que el péptido autocierre se somete a la escisión, partes de la proteína quimérica pueden ser liberadas de la proteína quimérica.

10 Tal y como se utiliza en el presente documento, los "péptidos de autodestrucción" son secuencias polipeptídicas cortas que se escinden después de la traducción por un ribosoma. Los péptidos autolimpiantes comprenden péptidos tales como P2A del teschovirus-1 porcino, E2A del virus A de la rinitis equina, F2A del virus 18 de la fiebre aftosa y T2A del virus *Thosea asigna*. Uno o más péptidos autodestructivos pueden fusionarse en terminal N, terminal C o internamente a otras proteínas o polipéptidos.

15 Tal y como se utiliza en el presente documento, los "dominios extracelulares" son dominios en proteínas de membrana que sobresalen del lado extracelular de una membrana celular. Los dominios extracelulares están conectados con uno o más dominios transmembrana. La conexión puede ser terminal N, terminal C o ambas. Los dominios extracelulares conectados terminalmente en N y C a dos dominios transmembrana se denominan bucles extracelulares.

20 Tal y como se utiliza en el presente documento, los "dominios intracelulares" son dominios en proteínas de membrana que sobresalen del lado intracelular de una membrana celular. Los dominios intracelulares están conectados con uno o más dominios transmembrana. La conexión puede ser terminal N, terminal C o ambas. Los dominios intracelulares conectados terminalmente en N y C a dos dominios transmembrana se denominan bucles intracelulares.

25 Las proteínas de membrana pueden no tener ninguno, uno o más dominios intracelulares. Los dominios intracelulares pueden comprender dominios de unión a ligandos y de señalización.

30 Tal y como se utilizan en el presente documento, los términos "ácido nucleico", "secuencia de nucleótidos", "oligonucleótido" y "polinucleótido" son intercambiables. Todos se refieren a una forma polimérica de nucleótidos. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos (ADN) o ribonucleótidos (ARN), o análogos, y pueden tener cualquier longitud. Los polinucleótidos pueden realizar cualquier función y pueden tener cualquier estructura secundaria y tridimensional. Los términos abarcan los análogos conocidos de los nucleótidos naturales y los nucleótidos que están modificados en la base, el azúcar y/o las fracciones de fosfato. Los análogos de un determinado nucleótido tienen la misma especificidad de emparejamiento de bases (por ejemplo, un análogo de A se empareja con T). Un polinucleótido puede comprender un nucleótido modificado o múltiples nucleótidos modificados. Los ejemplos de nucleótidos modificados incluyen nucleótidos metilados y análogos de nucleótidos. La estructura de los nucleótidos puede modificarse antes o después del ensamblaje del polímero. Tras la polimerización, los polinucleótidos pueden ser modificados adicionalmente mediante, por ejemplo, la conjugación con un componente de etiquetado o de unión al objetivo. Una secuencia de nucleótidos puede incorporar componentes no nucleótidos. Los términos también abarcan los ácidos nucleicos que comprenden residuos de la columna vertebral o enlaces modificados que son sintéticos, naturales y no naturales, y que tienen propiedades de unión similares a las de un polinucleótido de referencia (por ejemplo, ADN o ARN). Los ejemplos de tales análogos incluyen, pero no se limitan a, fosforotiatos, fosforamidatos, fosfonatos de metilo, fosfonatos de metilo quirales, ribonucleótidos de 2-O-metilo, ácidos péptido-nucleicos (PNAs), y estructuras morfolinas.

45 Las secuencias de polinucleótidos se muestran en el presente documento en la orientación convencional de 5' a 3'.

50 Por el término "variante degenerada" se entiende un polinucleótido que contiene cambios en la secuencia de ácido nucleico del mismo que codifica un polipéptido que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el polipéptido codificado por el polinucleótido del que deriva la variante degenerada. Un ejemplo de variante degenerada es una secuencia de polinucleótidos que ha sido optimizada para su expresión en una célula huésped concreta.

55 Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "identidad de secuencia" se refiere generalmente al porcentaje de identidad de bases o aminoácidos determinado al comparar un primer polinucleótido o polipéptido con un segundo polinucleótido o polipéptido utilizando algoritmos que tienen diversos parámetros de ponderación. La identidad de secuencias entre dos polipéptidos o dos polinucleótidos puede determinarse mediante la alineación de secuencias por diversos procedimientos y programas informáticos (*por ejemplo*, BLAST, CS-BLAST, FASTA, HMMER, L-ALIGN, etc.), disponibles en la web mundial en sitios que incluyen GENBANK ([ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)) y EMBL-EBI ([ebi.ac.uk](http://ebi.ac.uk)). La identidad de secuencia entre dos polinucleótidos o dos secuencias polipeptídicas se calcula generalmente utilizando los parámetros estándar por defecto de los distintos procedimientos o programas informáticos.

65 Por "vector" se entiende cualquier elemento genético, tal como un plásmido, un fago, un transposón, un cósmido, un cromosoma, un virus, un virión, etc., que es capaz de replicarse cuando se asocia con los elementos de control adecuados y que puede transferir secuencias genéticas a las células. Así, el término incluye vehículos de clonación y expresión, así como vectores virales. Los vectores pueden ser lineales o circulares. Los vectores pueden integrarse

en un genoma objetivo de una célula huésped o replicarse independientemente en una célula huésped. Los vectores pueden comprender, por ejemplo, un origen de replicación, un sitio de multiclonación y/o un marcador seleccionable. Un "vector de expresión" suele comprender un casete de expresión.

5 Por "vector recombinante" se entiende un vector que incluye una secuencia de ácido nucleico heterólogo capaz de expresarse *in vitro* o *in vivo*. El término "heterólogo", en relación con las secuencias de ácidos nucleicos, tal como las secuencias codificadoras y las secuencias de control, denota secuencias que no están normalmente unidas entre sí, y/o que no están normalmente asociadas a una célula concreta. Así, una región "heteróloga" de un constructo de ácido nucleico o de un vector es un segmento de ácido nucleico dentro de otra molécula de ácido nucleico o unido a ella que no se encuentra asociado a la otra molécula en la naturaleza. Por ejemplo, una región heteróloga de un constructo de ácido nucleico puede incluir una secuencia codificante flanqueada por secuencias que no se encuentran asociadas a la secuencia codificante en la naturaleza. Otro ejemplo de secuencia codificante heteróloga es un constructo en el que la propia secuencia codificante no se encuentra en la naturaleza (por ejemplo, secuencias sintéticas que tienen codones diferentes del gen nativo). Del mismo modo, una célula transformada con un constructo que no está normalmente presente en la célula se consideraría heteróloga a efectos del presente documento. La variación alélica o los eventos mutacionales que se producen de forma natural no dan lugar a un ADN heterólogo, tal y como se utiliza en el presente documento.

20 Por "virus recombinante" se entiende un virus que ha sido alterado genéticamente, *por ejemplo*, mediante la adición o inserción de un constructo de ácido nucleico heterólogo en la partícula.

25 La "transformación", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la inserción de un polinucleótido exógeno en una célula huésped, independientemente del procedimiento utilizado para la inserción. Por ejemplo, la transformación puede ser por captación directa, transfección, infección y similares. El polinucleótido exógeno puede mantenerse como un vector no integrado, por ejemplo, un episoma, o, alternativamente, puede integrarse en el genoma del huésped.

30 Una "célula huésped" es una célula que ha sido transformada, o es capaz de transformarse, por una secuencia de ADN exógena. Una célula huésped puede proceder de cualquier organismo que tenga una o más células. Los ejemplos de células huésped incluyen, pero no se limitan a: una célula procariota, una célula eucariota, una célula bacteriana, una célula arquea, una célula de un organismo eucariota unicelular, una célula de protozoo, una célula de una planta, una célula de alga, una célula de hongo (por ejemplo, una célula de levadura, una célula de un hongo), una célula animal, una célula de un animal invertebrado, una célula de un animal vertebrado tal como una célula de un mamífero (por ejemplo, un cerdo, una vaca, una cabra, una oveja, un roedor, una rata, un ratón, un primate no humano, un humano, etc.). Además, una célula huésped puede ser una célula madre o progenitora, y una célula inmunológica, tal como cualquiera de las células inmunológicas descritas en el presente documento.

40 Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "casete de expresión" o "constructo de expresión" es un constructo polinucleotídico, generada de forma recombinante o sintética, que comprende secuencias reguladoras unidas de forma operativa a un polinucleótido seleccionado para facilitar la expresión del polinucleótido seleccionado en una célula huésped. Por ejemplo, las secuencias reguladoras pueden facilitar la transcripción del polinucleótido seleccionado en una célula huésped, o la transcripción y traducción del polinucleótido seleccionado en una célula huésped. Un casete de expresión puede, por ejemplo, integrarse en el genoma de una célula huésped o estar presente en un vector de expresión.

45 Una "secuencia codificadora" o una secuencia que "codifica" un polipéptido seleccionado, es una molécula de ácido nucleico que se transcribe (en el caso del ADN) y se traduce (en el caso del ARNm) en un polipéptido *in vitro* o *in vivo* cuando se coloca bajo el control de secuencias reguladoras adecuadas. Los límites de la secuencia codificadora están determinados por un codón de inicio en el extremo 5' y un codón de parada de la traducción en el extremo 3'. Una secuencia de terminación de la transcripción puede estar situada a 3' de la secuencia codificante.

50 Tal y como se utilizan en el presente documento, los términos "secuencias reguladoras", "elementos reguladores" y "elementos de control" son intercambiables y se refieren a las secuencias de polinucleótidos que se encuentran corriente arriba (secuencias no codificantes 5'), dentro o corriente abajo (secuencias no traducidas 3') de un polinucleótido que debe expresarse. Las secuencias reguladoras influyen, por ejemplo, en el momento de la transcripción, la cantidad o el nivel de transcripción, el procesamiento o la estabilidad del ARN, y/o la traducción de la secuencia estructural de nucleótidos relacionada. Las secuencias reguladoras pueden incluir secuencias de unión a activadores, potenciadores, intrones, secuencias de reconocimiento de poliadenilación, promotores, elementos IRES, secuencias de unión a represores, estructuras de bucle de tallo, secuencias de iniciación de la traducción, secuencias líderes de la traducción, secuencias de terminación de la transcripción, secuencias de terminación de la traducción, sitios de unión a cebadores y similares.

65 El término "promotor" se utiliza en el presente documento en su sentido ordinario para referirse a una región de nucleótidos que comprende una secuencia reguladora de ADN, en la que la secuencia reguladora se deriva de un gen que es capaz de unirse a la ARN polimerasa e iniciar la transcripción de una secuencia codificadora corriente abajo (dirección 3'). Los promotores de transcripción pueden incluir "promotores inducibles" (en los que la expresión de una

secuencia de polinucleótidos unida operativamente al promotor es inducida por un analito, cofactor, proteína reguladora, etc.), "promotores reprimibles" (en los que la expresión de una secuencia de polinucleótidos unida operativamente al promotor es inducida por un analito, cofactor, proteína reguladora, etc.) y "promotores constitutivos"

5 Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "operablemente enlazado" se refiere a secuencias de polinucleótidos o secuencias de aminoácidos colocadas en una relación funcional entre sí. Por ejemplo, un promotor o potenciador está vinculado de forma operativa a una secuencia codificante si regula o contribuye a la modulación de la transcripción de la secuencia codificante. Las secuencias de ADN enlazadas operativamente que codifican secuencias reguladoras suelen ser contiguas a la secuencia codificante. Sin embargo, los potenciadores pueden funcionar cuando están separados de un promotor por hasta varias kilobases o más. En consecuencia, algunos elementos polinucleótidos pueden estar unidos de forma operativa pero no contiguos.

15 Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "expresión" se refiere a la transcripción de un polinucleótido a partir de una plantilla de ADN, dando lugar, por ejemplo, a un ARNm u otro transcrito de ARN (por ejemplo, no codificante, tal como los ARN estructurales o de andamiaje). El término se refiere además al procedimiento mediante el cual el ARNm transcrito se traduce en péptidos, polipéptidos o proteínas. Los transcritos y los polipéptidos codificados se denominan a veces colectivamente "producto génico" La expresión puede incluir el empalme del ARNm en una célula eucariota, si el polinucleótido se deriva del ADN genómico.

20 Por "aislado" se entiende, cuando se refiere a un polipéptido, que la molécula indicada está separada y discreta de todo el organismo con el que la molécula se encuentra en la naturaleza o está presente en ausencia sustancial de otras macromoléculas biológicas del mismo tipo. El término "aislado" con respecto a un polinucleótido es una molécula de ácido nucleico desprovista, en todo o en parte, de secuencias normalmente asociadas a ella en la naturaleza; o una secuencia, tal como existe en la naturaleza, pero que tiene secuencias heterólogas en asociación con ella; o una molécula disociada del cromosoma.

25 El término "purificado", tal y como se utiliza en el presente documento, significa preferentemente que está presente al menos 75 % en peso, más preferentemente al menos 85 % en peso, más preferentemente aún al menos 95 % en peso, y más preferentemente al menos 98 % en peso, de la misma molécula.

30 La presente divulgación está dirigida a las proteínas transmembrana quiméricas que comprenden módulos suicidas, así como a las células modificadas que comprenden estas proteínas transmembrana quiméricas y al uso de estos constructos y células modificadas para prevenir los efectos secundarios indeseables de las terapias celulares autólogas y alogénicas, tales como el síndrome de liberación de citoquinas (CRS), la neurotoxicidad y la enfermedad de Injerto contra Huésped (GvHD). Dado que las células manipuladas, tal como las células T, pueden expandirse y persistir durante años después de su administración, es deseable incluir un mecanismo de seguridad que permita el agotamiento selectivo de las células infundidas de forma adoptiva frente a la toxicidad. El uso de módulos suicidas permite la destrucción selectiva de las células transferidas adoptivamente y puede utilizarse para prevenir o detener las toxicidades inaceptables causadas por la terapia en cuestión. En presencia de una molécula que se une o reacciona de otro modo con un módulo suicida expresado en la superficie de una célula, puede producirse la mortandad de la célula, lo que puede evitar otros efectos secundarios no deseados y perjudiciales del tratamiento. Así, los módulos suicidas permiten la eliminación selectiva de las células diseñadas *in vivo*.

35 Los genes suicidas que codifican proteínas suicidas para su uso en constructos de módulos suicidas pueden clasificarse ampliamente en función de su mecanismo de acción. Algunos genes suicidas se clasifican como genes que codifican módulos metabólicos con base en pequeñas moléculas, tal como los que convierten un profármaco en un agente tóxico activo, lo que se conoce como terapia enzimática de profármacos dirigida por genes (GDEPT). Algunos ejemplos de estos módulos son los sistemas derivados de la timidina quinasa del virus del herpes simple (HSV-tk). El gen *tk* es un gen suicida dependiente del ciclo celular que cataliza la generación del trifosfato ganciclovir (GCV), que es tóxico para las células en proliferación al inhibir la elongación de la cadena de ADN. Otros sistemas de este tipo se basan en la citosina deaminasa/5-fluorocitosina (CD/5-FC). La citosina desaminasa convierte el profármaco 5-fluorocitosina en el activo 5-fluorouracilo, que a su vez provoca la muerte celular.

40 Otros tipos de genes suicidas incluyen genes que codifican sustancias que se dimerizan y causan la muerte celular en presencia de ciertos agentes químicos. Algunos ejemplos son FAS inducible (iFAS) y la Caspasa 9 inducible (iCasp9) que se dimerizan en presencia de la sustancia química rimiducid o análogos de rimiducid.

45 Otra clase de genes suicidas incluye genes que codifican receptores de ligandos que comprenden dominios de unión a ligandos, por ejemplo, epitopos, que pueden ser unidos por anticuerpos, tales como, pero no limitados a, anticuerpos clínicamente aprobados que causan muerte celular por citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) después de unirse con el epítipo. Esta clase de genes incluye, sin limitación, genes que codifican dominios de unión a ligandos de marcadores expresados en la superficie celular, tales como, pero no limitados a, CD20 o mimotopos de CD20 (véase, por ejemplo, Valton *et al.*, *Scientific Reports* (2018) 8:8972). CD20 es un marcador de la membrana de las células B al que se dirige el rituximab (Rituxan®, Genentech, South San Francisco, CA), un anticuerpo monoclonal que se utiliza para tratar varios trastornos, tales como la leucemia linfocítica crónica (LLC), el linfoma no Hodgkins (LNH), la artritis reumatoide (AR), la granulomatosis

con poliangitis (GPA), las angitis microscópicas (MPA) y el pénfigo vulgar (PV). También son útiles los epítomos de CD19, un marcador de la membrana de las células B al que se dirige el blinatumomab (Blincyto®, Amgen, Thousand Oaks, CA), utilizado para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (LLA); los epítomos de CD34 que pueden unirse a anticuerpos anti-CD34, tal como QBEND10 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA); así como combinaciones de los anteriores, tales como RQR8 que contiene epítomos objetivo tanto de CD34 como de CD20 (Philip et al., Blood (2014) 124:1277-1287). En el constructo R2R8, CD34 sirve como marcador para la selección y los epítomos CD20 se unen al rituximab para inducir ADCC y la CDC. También es útil un polipéptido humano derivado del EGFR, tal como un EGFR truncado (huEGFRt) (Wang et al., Blood (2011) 118:1255-1263). Los polipéptidos derivados del EGFR pueden ser reconocidos por el cetuximab (Erbix®), Eli Lilly and Company, Indianápolis, IN).

Los genes que codifican dominios de unión a ligandos derivados del antígeno de maduración de células B (BCMA, también conocido como miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF) (TNFRSF17), se utilizan en los presentes constructos. BCMA es un receptor de superficie celular que se expresa en la superficie de los linfocitos B maduros, pero no en los linfocitos T ni en los monocitos. La proteína BCMA incluye un dominio extracelular (ECD), una región transmembrana (TM) y un dominio de membrana intracelular (ICD). El BCMA se une a dos ligandos diferentes, denominados BAFF y APRIL, que pueden conjugarse con una citotoxina (un conjugado anticuerpo-fármaco, ADC) que se une a las células que expresan un dominio de unión al ligando del BCMA. Por ejemplo, BCMA puede ser objeto de GSK2857916 (GlaxoSmithKline, Brentford, Reino Unido), una molécula que incluye un anticuerpo monoclonal humanizado anti-BCMA conjugado con el agente citotóxico monometil auristatina-F. Otros ADCs anti-BCMA comprenden MEDI2228 (MedImmune LLC, Gaithersburg, MD), AMG224 (Amgen, Thousand Oaks, CA), y HDP-101 (Heidelberg-Pharma, Múnich, Alemania).

Por lo tanto, es evidente que los genes suicidas pueden codificar las moléculas de longitud completa, fragmentos de las mismas que comprenden epítomos (por ejemplo, dominios de unión a ligandos) y mimotopos de las mismas. Los productos genéticos suicidas pueden utilizarse en los módulos suicidas descritos en el presente documento.

Los módulos de proteínas suicidas para su uso con proteínas transmembrana quiméricas comprenden típicamente al menos un dominio de unión a ligando, *por ejemplo*, codificado por uno o más de los genes suicidas descritos anteriormente, incluyendo, un dominio de unión a ligando de BCMA, mimotopos de los mismos, y combinaciones de los mismos. Los módulos de la proteína suicida también incluyen un dominio transmembrana que ancla el dominio de unión al ligando a la membrana celular. El dominio de unión al ligando puede unirse a la fracción que conferirá la mortandad de ADCC, CDC y/o ADC, tal como un anticuerpo u otro ligando afín. El módulo suicida puede diseñarse como una proteína de membrana de tipo I con un ECD terminal N, una proteína de membrana de tipo II con un ICD terminal C-, o una proteína transmembrana de múltiples dimensiones. La TM es una TM quimérica. El dominio de unión al ligando elegido puede fusionarse a un constructo CAR o se divulga una proteína de fusión B2M/HLA-E, descrita más adelante, con o sin enlazadores. Además, en algunas realizaciones, los constructos incluyen secuencias enlazadoras, tales como enlazadores flexibles, para enlazar diversos componentes. Los enlazadores suelen ser secuencias de aminoácidos cortas y repetitivas, generalmente ricas en aminoácidos pequeños o polares, tales como Gly y Ser, y pueden aportar flexibilidad y solubilidad a los constructos. La longitud de los enlazadores flexibles puede ajustarse para permitir un plegado adecuado o para lograr una actividad biológica óptima de las proteínas de fusión. Los enlazadores típicos incluyen de 3 a 25 aminoácidos aproximadamente. Véase, *por ejemplo*, Chen et al., Adv. Drug. Deliv. Rev. (2013) 65:1357-1369, para una revisión de enlazadores para su uso en proteínas de fusión y la Tabla 2 para enlazadores ejemplares para su uso en los presentes constructos.

Tabla 2: Enlazadores ejemplares

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:15	Enlazador GSG	GSG
SEQ ID NO:16	Enlazador GGS	GGS
SEQ ID NO: 17	(G3S) enlazador	GGGS
SEQ ID NO:18	(G4S) enlazador	GGGGS
SEQ ID NO:19	(G5S) enlazador	GGGGGS
SEQ ID NO:20	(G3S) enlazador	GGGS
SEQ ID NO:21	(GGS)7 enlazador	GGSGGSGGSGGSGGSGGSGGS
SEQ ID NO:22	enlazador triple A	AAA
SEQ ID NO:23	(G3S)3	GGGSGGGSGGGS
SEQ ID NO:24	(G4S)3	GGGGSGGGSGGGGS
SEQ ID NO:25	(G4S)4	GGGGSGGGSGGGSGGGGS
SEQ ID NO:26	(G4S)5	GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
SEQ ID NO:27	XTEN	SGSETPGTSESATPES

En una realización, los módulos de proteínas suicidas se basan en moléculas derivadas de BCMA. Como se explica en el presente documento, la proteína BCMA de longitud completa incluye un ECD, un TM y un ICD. Estos dominios pueden utilizarse en módulos suicidas en su totalidad, o en porciones de los mismos que comprendan deleciones o truncamientos, o variantes de los mismos, que conserven la actividad biológica deseada, tal como el dominio de unión al ligando (en el caso del ECD) y la capacidad de anclar el dominio de unión al ligando a la membrana celular (en el caso del TM). El módulo también puede incluir, aunque no necesariamente, una secuencia de señales. El BCMA puede incluir la secuencia de aminoácidos de longitud completa, tal como la secuencia de SEQ ID NO: 1. Alternativamente, el componente BCMA puede ser más corto o más largo. Por ejemplo, el módulo suicida puede incluir el ECD, tal como los residuos 1-54 de BCMA (SEQ ID NO:3). El módulo suicida BCMA puede incluir los residuos 1-77 de SEQ ID NO: 1, incluyendo así el ECD y la TM, para anclar la proteína en la membrana y permitir el agotamiento. El módulo suicida BCMA puede incluir ECD, TM, y una porción truncada de ICD, tal como ICD de SEQ ID NO: 5 que tiene una eliminación de los aminoácidos 2-15 del ICD BCMA. El módulo suicida BCMA puede incluir una proteína que retiene los aminoácidos 1-16 del ICD, con una eliminación terminal C del resto del ICD, tal como la secuencia IDC que muestra SEQ ID NO:6. Divulga que el módulo suicida BCMA puede incluir un ECD que carece de los aminoácidos 1-5 del ECD, como se muestra en la SEQ ID NO:7. También se divulga que el módulo suicida BCMA puede incluir un ECD que carece de los aminoácidos 41-54 del ECD, como se muestra en la SEQ ID NO:8. Además, se divulga que el módulo suicida BCMA puede incluir un ECD que carece de los aminoácidos 1-5 y 41-54, como se muestra en la SEQ ID NO:9. Se pueden prever fácilmente otras configuraciones del módulo suicida BCMA. La tabla 3 proporciona componentes representativos para su uso en los módulos de suicidio basados en BCMA.

**Tabla 3:** Secuencias ejemplares de componentes BCMA para su uso en módulos suicidas basados en BCMA

SEQ ID NO:	Estructura
SEQ ID NO: 1	BCMA completo (BCMA FL), incluyendo ECD, TM y ICD
SEQ ID NO:5	Dominio ICD truncado por BCMA (truncamiento ICD I)
SEQ ID NO:6	Dominio ICD truncado por BCMA (truncamiento ICD II)
SEQ ID NO:3	Dominio ECD BCMA
SEQ ID NO:7	Dominio ECD BCMA con truncamiento terminal N
SEQ ID NO:8	Dominio ECD BCMA con truncamiento terminal C
SEQ ID NO:9	Dominio ECD BCMA con truncamientos terminal N y C

Así, los módulos suicidas BCMA pueden comprender al menos un dominio de unión a ligando y un dominio transmembrana que ancla el dominio de unión a ligando a la membrana celular. El dominio de unión al ligando se encuentra en la porción rica en cisteína del ECD, aproximadamente en los aminoácidos 6-41 de la SEQ IN NO:3, y puede unir la fracción que conferirá la mortandad por ADCC o ADC, tal como un anticuerpo o un ligando afín, o un anticuerpo conjugado con una toxina. La TM presente en los módulos suicidas con base en BCMA puede ser la TM nativa de BCMA o una TM heteróloga, por ejemplo, una TM CD8, tal como la TM CD8a (SEQ ID NO: 10) o la TM CD28 (SEQ ID NO:64), así como, la TM HLA-E, la TM IL-15R, la TM IL-15/IL-15R, la TM TACI o la TM CD19. En algunas realizaciones, los constructos BCMA incluyen secuencias enlazadoras, por *ejemplo*, entre el ECD y la TM, o entre otros componentes de los constructos BCMA. En la Tabla 2D se muestran ejemplos de secuencias enlazadoras. Los constructos BCMA pueden incluir glicoproteínas de la superficie celular, tales como CD34 y/o CD8. CD34 puede utilizarse para la clasificación de las células utilizando un anticuerpo anti-CD34, tal como QBEND10 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) y la CD8 puede utilizarse como enlace adicional. La Tabla 4 proporciona las secuencias de fusión de constructos representativos que comprenden módulos suicidas BCMA.

**Tabla 4:** Módulos suicidas ejemplares con base en BCMA

SEQ ID: NO:	Estructura
SEQ ID NO: 1	BCMA completo (BCMA FL), incluyendo BCMA ECD, TM e ICM
SEQ ID NO:46	BCMA incluyendo ECD, TM y ICD truncado I
SEQ ID NO:47	BCMA incluyendo ECD, TM y ICD truncado II
SEQ ID NO:48	ECD BCMA /CD8TM
SEQ ID NO:49	ECD BCMA /enlazador/CD8TM
SEQ ID NO:50	ECD BCMA /CD34/CD8TM
SEQ ID NO:51	ECD BCMA /CD34/CD8/CD8TM

Se divulga que uno o más módulos suicidas, tales como los módulos suicidas con base en BCMA, pueden incluirse en un constructo CAR, para producir una proteína de fusión que incluye componentes CAR y el módulo suicida. Divulga que el módulo suicida puede colocarse internamente o puede situarse en el extremo N o C del casete CAR. Se divulga que un péptido de autodestrucción entre el módulo suicida y el resto del constructo puede ser utilizado para permitir

la coexpresión del módulo suicida y el resto del constructo dentro de la célula objetivo, seguido de la escisión, de tal manera que estos dos componentes se expresan como proteínas separadas en la superficie celular. Se divulga que, por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender un péptido 2A de autodestrucción, tal como el péptido 2A de la fiebre aftosa.

5 La FIG. 1A es una representación de un constructo CAR representativo sin módulo suicida. Los constructores CAR suelen incluir al menos un fragmento variable de cadena simple (scFv) extracelular de un anticuerpo. El scFv se deriva de la porción del anticuerpo que reconoce específicamente una proteína objetivo y se expresa en la superficie de una célula T CAR para conferirle especificidad al antígeno. El componente scFv o el componente de unión a ligando puede ser cualquiera de los scFv o componentes de unión a ligando mostrados en la Tabla 1, así como otros scFv y componentes de unión a ligando conocidos en la técnica. El scFv puede unirse a un péptido bisagra/espaciador que conecta el elemento de orientación extracelular con un dominio transmembrana y afecta a la función del CAR y a la flexibilidad del scFv. El dominio transmembrana atraviesa la membrana celular, ancla el CAR a la superficie de la célula y conecta el dominio extracelular con el dominio de señalización intracelular, incidiendo así en la expresión del CAR en la superficie de la célula. El dominio de señalización intracelular media en la señalización descendente durante la activación de las células T. Cuando el dominio de unión del ligando extracelular se une a un ligando afín, el dominio de señalización intracelular del CAR activa el linfocito. Las células T CAR combinan la especificidad de un anticuerpo con las funciones citotóxicas y de memoria de las células T. En las FIGS. 1A a 1F, el "dominio de señalización CAR" se refiere a la combinación del péptido bisagra/espaciador, el dominio transmembrana y el dominio de señalización intracelular de células T.

Proteínas de fusión CAR ejemplares que comprenden módulos suicidas de la presente invención (designados "SM" en las FIGS. 1 y 2) y los componentes CAR se muestran en las FIGS. 1B-1F y descrito en la Tabla 5. Como se muestra en la FIG. 1D, los constructos CAR pueden incluir un dominio scFv que se divide en dos partes (designadas scFvD 1 y scFvD2) que pueden estar conectadas por un módulo suicida. Además, los constructos de CAR pueden incluir los CAR con más de un dominio scFv o dominio de unión a ligando (orientación dual), para dirigirse a más de una proteína. Debe entenderse que los módulos suicidas presentes en las fusiones CAR pueden ser cualquiera de los descritos en el presente documento. También debe entenderse que las secuencias para las fusiones CAR descritas en el presente documento son meramente ejemplares y que pueden diseñarse y utilizarse otras fusiones CAR que incluyan módulos suicidas.

**Tabla 5: Ejemplos de constructos CAR que incluyen módulos de suicidio**

SEQ ID NO:	Estructura
SEQ ID NO:52	señalización scFv/SM/CAR
SEQ ID NO:53	señalización SM/scFv/CAR
SEQ ID NO:54	señalización scFvD1/SM/scFvD2/CAR
SEQ ID NO:55	señalización SM/scFv/SM/CAR
SEQ ID NO:56	scFv/señalización CAR/péptido 2A/SM

Usando los constructos descritos en el presente documento, los dominios de unión al ligando pueden presentarse en las membranas de las células adoptivas, y los anticuerpos que se dirigen a estos dominios pueden ser diseñados para causar la mortandad de ADCC, CDC o ADC. En el caso de ADC, se puede utilizar un conjugado de anticuerpos que incluya un fármaco citotóxico biológicamente activo. La porción de anticuerpo del conjugado interactúa con el dominio de unión al ligando. La reacción bioquímica entre el anticuerpo y el dominio de unión al ligando desencadena una señal en la célula adoptiva, que entonces internaliza el anticuerpo junto con la citotoxina. Tras la internalización del ADC, el fármaco citotóxico se libera y causa mortandad a la célula.

Ejemplos de citotoxinas para uso con anticuerpos, incluyen, monometil auristatina-F, auristatina-E, medicamentos con base en calicheamicina, y emtansina (DM-1).

Los polinucleótidos que codifican los constructos de proteínas que contienen módulos suicidas descritos en el presente documento pueden diseñarse y los vectores que comprenden casetes de expresión pueden utilizarse para transformar las células adoptivas como se describe en el presente documento.

Los polinucleótidos pueden ser ARN, tales como ARNm, o ADN de una o dos cadenas. Los polinucleótidos codifican las proteínas de fusión descritas en el presente documento y, por lo tanto, comprenden secuencias de codificación para los diversos componentes de los constructos que contienen módulos suicidas. Como se explica en el presente documento, los polinucleótidos también pueden comprender otras secuencias, como secuencias que codifican enlazadores y secuencias de señal. Los polinucleótidos que codifican los componentes de las fusiones pueden ligarse para formar una secuencia codificante para las proteínas de fusión utilizando técnicas estándar de biología molecular. Las secuencias polinucleotídicas pueden estar optimizadas en cuanto a codones para su expresión en células de mamífero. Las secuencias de ADN optimizadas pueden determinarse utilizando programas informáticos disponibles

en el mercado y los polinucleótidos que comprenden las secuencias optimizadas pueden sintetizarse utilizando técnicas bien conocidas. Las secuencias optimizadas pueden obtenerse de fabricantes comerciales.

Las secuencias de polinucleótidos pueden entonces clonarse en un vector de expresión y utilizarse para transformar células huésped de mamíferos. Existe un gran número de vectores de expresión adecuados para la transformación de células de mamíferos. Además, los procedimientos generales para el constructo de vectores de expresión son conocidos en la técnica. Existen varios programas informáticos comerciales que facilitan la selección de los vectores adecuados y su constructo, tales como los vectores para la transformación de células de mamíferos y la expresión de genes en células de mamíferos.

Los vectores derivados de virus de mamíferos pueden utilizarse para expresar los polinucleótidos descritos en el presente documento en células de mamíferos. Entre ellos se encuentran los vectores derivados de virus tales como el adenovirus, el virus adeno-asociado (AAV), el papovirus, el herpesvirus, el poliomavirus, el citomegalovirus, el lentivirus, el retrovirus, la vaccinia y el virus Simian 40 (SV40) (véase, *por ejemplo*, Kaufman, R. J., *Molecular Biotechnology* (2000) 16:151-160 y Cooray et al., *Methods Enzymol.* (2012) 507:29-57). Las secuencias reguladoras unidas de forma operativa a los componentes pueden incluir secuencias de unión a activadores, potenciadores, intrones, secuencias de reconocimiento de poliadenilación, promotores, secuencias de unión a represores, estructuras de bucle de tallo, secuencias de iniciación de la traducción, secuencias líderes de la traducción, secuencias de terminación de la transcripción, secuencias de terminación de la traducción, sitios de unión de cebadores y similares. Los vectores virales suelen incluir promotores constitutivos o inducibles, tales como, por ejemplo, CMV, EF1a, SV40, PGK1 (ratón o humano), MND, Ubc, CAG, CaMKIIa y beta-Act. Véase, *por ejemplo*, Khan, K. H., *Advanced Pharmaceutical Bulletin* (2013) 3:257-263. Además, pueden utilizarse promotores de la ARN polimerasa III de mamíferos, incluyendo H1 y U6. Adicionalmente, puede estar presente un terminador, tal como, pero no limitado a, WPRN, o una secuencia PolyA, tal como, pero no limitado a, una secuencia SV40, o una secuencia BGH. Además, los constructos multicistronicos, tal como las descritos en el presente documento, que incluyen múltiples secuencias codificantes pueden diseñarse para utilizar sólo un promotor incluyendo un elemento de sitio de entrada del ribosoma interno (IRES), o secuencias que codifican un péptido de autodestrucción 2A, y similares

Alternativamente, el ARNm puede ser producido por un fabricante comercial a partir de un vector de ADN que contiene un promotor y un módulo terminador. En otra realización, las secuencias de polinucleótidos descritas en el presente documento pueden clonarse en un transposón, tal como, por ejemplo, el sistema de transposones Sleeping Beauty (Kebriaei et al., *Trends in Genetics* (2017) 33:852-870), o el sistema de transposones PiggyBac (Woodard et al., *Trends in Biotechnology* (2015) 33:525-533).

El virus, el ARNm o el constructo de transposón/transposasa pueden entonces introducirse en células de mamífero utilizando procedimientos de transducción, tales como, pero no limitados a, espinoculación para el virus, o lipofección y nucleofección para el ADN. Las células madre o los linfocitos, tales como las células mononucleares de la sangre periférica (PBMC), pueden adquirirse de proveedores comerciales. Alternativamente, los linfocitos, tales como las PBMC, pueden aislarse como se describe más adelante en el presente documento. Las células pueden ser transducidas con el virus a diferentes títulos (MOI, multiplicidad de infección), dependiendo del tipo de célula. Los títulos típicos pueden ser de hasta  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ , y superiores.

Por ejemplo, los CAR, tales como los CAR que codifican módulos suicidas y componentes de CAR, pueden insertarse en linfocitos, tales como células T, utilizando la tecnología estándar de ADN recombinante, técnicas de terapia génica, transfección de ARNm, el sistema de transposones Sleeping Beauty (Kebriaei et al., *Trends in Genetics* (2017) 33:852-870), el sistema de transposones PiggyBac (Woodard et al., *Trends in Biotechnology* (2015) 33:525-533), así como los procedimientos de edición de genes que utilizan nucleasas programables que permiten realizar modificaciones genéticas selectivas en el genoma de una célula huésped mediante la creación de roturas específicas en los lugares deseados. Dichas nucleasas incluyen, pero sin limitarse a, nucleasas asociadas a repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas (CRISPR), nucleasas de dedos de zinc (ZFN), nucleasas efectoras similares a activadores de la transcripción (TALEN) y meganucleasas. Para revisiones de estas nucleasas programables véase, por ejemplo, Kim et al., *Nature Reviews Genetics* (2014) 15:321-334 (para revisiones de todas las nucleasas anteriores) Koonin et al., *Curr Opin Microbiol.* (2017) 37:67-78 Makarova et al., *Cell* (2017) 168:146 Makarova et al., *Cell* (2017) 168:328 Hsu et al., *Cell* (2014) 157:1262-1278 Jore, et al., *Nature Struct. and Molec. Biol.* (2011) 18:529-536 (para revisiones de nucleasas asociadas a CRISPR) Urnov et al., *Nature Reviews Genetics* (2010) 11:636-646 (para una revisión de las ZFN) Stoddard, B., *Mobile DNA* (2014) 5:7 (para una revisión de las meganucleasas) Joung et al., *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (2013) 14:49-55 (para una revisión de las TALEN).

Típicamente, los linfocitos, tales como las células T, se incuban con un vector viral, tal como un vector de virus adeno-asociado (AAV) recombinante, un vector adenoviral, un vector lentiviral, un vector retroviral, o similares, que codifica el casete de expresión deseado, tal como un casete B2M/HLA-E, o un casete de expresión CAR (véase, *por ejemplo*, Levine et al., *Mol. Therapy-Meth. Clin. Develop.* (2017) 4:92-101 Wang et al., *Mol. Therapy - Oncolytics* (2016) 3:16015; Smith et al., *J. Cell Immunother.* (2016) 02:59-68 Maude et al., *N. Engl. J. Med.* (2014) 371:1507-1517 Patente de EE. UU. No. 7,446,190 y 8,399,645. El material genético insertado puede integrarse en el genoma de las células del paciente o de las células del donante y luego expresarse en la célula o en la superficie celular.

Las células transducidas y transfectadas pueden analizarse para determinar la expresión del transgén utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica, tales como las técnicas de cribado de alto rendimiento que incluyen las plataformas de cribado basadas en la clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), las plataformas de cribado con base en la microfluídica, los ELISA y similares. Estas técnicas son bien conocidas y revisadas en, por ejemplo, Wojcik et al., *Int. J. Molec. Sci.* (2015) 16:24918-24945. También se pueden utilizar técnicas de Transferencia Western. Por ejemplo, las células T CAR transducidas por el gen suicida BCMA pueden analizarse para la expresión de CAR19 y BCMA utilizando anticuerpos anti-CAR19 y anti-BCMA marcados con fluorescencia (tales como los de Biologend, San Diego, CA; o Abcam, Cambridge, MA). La mortandad con base en ADCC puede comprobarse con un ensayo de mortandad con base en células NK. Brevemente, las células NK pueden aislarse de las PBMC y cultivarse en medios para células NK. Las células T CAR transducidas con un módulo suicida BCMA pueden cultivarse en medios de células T. Para el ensayo de mortandad, las células NK efectoras y las células T CAR objetivo pueden teñirse con fluorescencia y luego mezclarse en diferentes relaciones (1:10, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 y 10:1) y puede añadirse un anticuerpo inductor de ADCC, tal como GSK2857916 (GlaxoSmithKline, Brentford, Reino Unido). Las células se pueden incubar durante aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 o más horas, tal como hasta 24 horas, y luego se obtienen imágenes o se cuentan las células vivas/muertas y se contabilizan las relaciones. La mortandad con base en ADC puede evaluarse en un ensayo de mortandad similar que comprenda las células objetivo y el conjugado anticuerpo-fármaco inductor de ADC como se describe en el presente documento.

Las células adoptivas que pueden ser modificadas genéticamente para producir módulos que contengan suicidas incluyen, pero no se limitan a, linfocitos, tales como, pero no se limitan a, células T CAR, células T, TILs, células NK, células CAR-NK y células dendríticas; células madre, tales como, pero no limitadas a, células madre pluripotentes inducidas (iPSCs), células madre de la sangre del cordón umbilical y células madre hematopoyéticas; macrófagos; glóbulos rojos; fibroblastos; células endoteliales; células epiteliales; y células precursoras pancreáticas. Las células para su uso en el presente documento pueden aislarse de un sujeto, tal como un sujeto humano, utilizando técnicas estándar.

Por ejemplo, los linfocitos para su uso en el presente documento pueden aislarse de un sujeto, por ejemplo, de la sangre, o de tumores sólidos en el caso de los TIL, o de órganos linfoides tales como el timo, la médula ósea, los ganglios linfáticos y los tejidos linfoides asociados a las mucosas. Las técnicas para aislar linfocitos son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, las células mononucleares de la sangre periférica (PBMC) pueden aislarse de un paciente o de un donante mediante leucaféresis, un procedimiento donde se extrae sangre del sujeto, se separan los leucocitos y el resto de la sangre se devuelve a la circulación, utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica (*véase, por ejemplo*, Smith, J.W. *Ther. Apher.* (1997) 1:203-206).

Las PBMC también pueden separarse de la sangre total utilizando, por ejemplo, ficoll, un polisacárido hidrofílico que separa las capas de sangre, y centrifugación en gradiente de densidad. Generalmente, las muestras de sangre anticoagulada o desfibrada se colocan en capas sobre una solución de ficoll y se centrifugan para formar diferentes capas de células. La capa inferior incluye los glóbulos rojos (eritrocitos), que son recogidos o agregados por el medio ficoll y se hunden completamente hasta el fondo. La siguiente capa contiene principalmente granulocitos, que también migran hacia abajo a través de la solución opaca de ficoll. La siguiente capa incluye linfocitos, que suelen estar en la interfaz entre el plasma y la solución de ficoll, junto con monocitos y plaquetas. Para aislar los linfocitos, se recupera esta capa, se lava con una solución salina para eliminar las plaquetas, el ficoll y el plasma, y se vuelve a centrifugar.

Otras técnicas para aislar linfocitos incluyen el biopaneado, que aísla poblaciones celulares de la solución mediante la unión de células de interés a superficies de plástico recubiertas de anticuerpos. A continuación, se eliminan las células no deseadas mediante un tratamiento con anticuerpos específicos y complemento. Además, se puede utilizar el análisis del clasificador de células activado por fluorescencia (FACS) para detectar y contar los linfocitos. El análisis FACS utiliza un citómetro de flujo que separa las células marcadas en función de las diferencias de dispersión de la luz y la fluorescencia.

Para los TIL, los linfocitos se aíslan de un tumor y se cultivan, por ejemplo, en altas dosis de IL-2 y se seleccionan utilizando ensayos de cocultivo de liberación de citoquinas contra un tumor autólogo o líneas celulares tumorales compatibles con HLA. Los cultivos con evidencia de una mayor reactividad específica en comparación con los controles alogénicos no compatibles con el CMH pueden seleccionarse para una rápida expansión y luego introducirse en un sujeto con el fin de tratar el cáncer. *Véase, por ejemplo*, Rosenberg et al., *Clin. Cancer Res.* (2011) 17:4550-4557 Dudly et al., *Science* (2002) 298:850-854 Dudly et al., *J. Clin. Oncol.* (2008) 26:5233-5239 Dudley et al., *J. Immunother.* (2003) 26:332-342.

Una vez aislados, los linfocitos pueden ser caracterizados en términos de especificidad, frecuencia y función. Entre los ensayos más utilizados se encuentra el ensayo ELISPOT, que mide la frecuencia de la respuesta de las células T. El producto puede enriquecerse con subconjuntos específicos de células T, como las células T CD4+, CD8+, CD25+ o CD62L+, utilizando técnicas conocidas en la técnica. *Véase, por ejemplo*, Wang et al., *Mol. Terapia - Oncolytics* (2016) 3:16015.

Después del aislamiento, los linfocitos pueden ser activados usando técnicas bien conocidas en la técnica para promover la proliferación y diferenciación en linfocitos especializados. Por ejemplo, las células T pueden ser activadas

utilizando diversos procedimientos, incluyendo el uso de activadores solubles CD3/28 disponibles en el mercado, o perlas magnéticas recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-CD3/anti-CD28. Las microesferas pueden extraerse fácilmente del cultivo mediante la separación magnética utilizando técnicas conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Levine, B.L., BioProcessing J. (2007) 6:14-19). Se divulgan marcadores de superficie para células T activadas que incluyen, por ejemplo, CD3, CD4, CD8, PD1, IL2R y otros. Los linfocitos citotóxicos activados pueden causar mortandad a las células objetivo después de unirse a los receptores cognados en la superficie de las células objetivo. Los marcadores de superficie de las células NK incluyen, por ejemplo, CD16, CD56 y otros.

Antes, después o durante la activación, los linfocitos pueden ser modificados genéticamente para producir uno o más constructos que contengan módulos suicidas en la superficie celular, tales como los constructos derivados de BCMA y/o los constructos B2M/HLA-E que contienen módulos suicidas. Además, las células pueden transformarse con constructos que codifican uno o más receptores de antígenos quiméricos (CAR) en la superficie celular, reprogramando así los linfocitos para que se dirijan a las células tumorales. Divulga que los módulos de suicidio se incorporan a los constructos CAR. Se divulga que las constructos del módulo suicida se utilizan para transformar linfocitos independientemente de los constructos CAR. Los linfocitos modificados con CAR, tales como las células T CAR, reconocen antígenos solubles específicos o antígenos en la superficie de una célula objetivo, tal como la superficie de una célula tumoral, o en células del microambiente tumoral. Los objetivos celulares representativos, así como sus CAR afines, se muestran en la Tabla 1. Los CAR pueden incorporarse a células T, TIL, células NK o TCR, dando lugar a células T CAR, los CAR-TIL, células CAR-NK o células T CAR diseñadas con TCR, respectivamente, para su uso en inmunoterapias de células T adoptivas.

Los CAR, o los CAR y las constructos separadas que incluyen los módulos suicidas, pueden introducirse en los linfocitos, tal como las células T, utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica y descritos en el presente documento.

Una vez realizados los procedimientos de edición, las células se examinan para seleccionar las células con las modificaciones genómicas deseadas, utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica, tales como las técnicas de cribado de alto rendimiento, incluyendo las plataformas de cribado con base en la clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), las plataformas de cribado con base en la microfluídica, y similares. Estas técnicas son bien conocidas y revisadas en, por ejemplo, Wojcik et al., Int. J. Molec. Sci. (2015) 16:24918-24945.

Tras el aislamiento, la activación y, opcionalmente, la edición, los linfocitos pueden expandirse en un medio de cultivo seleccionado, tal como, por ejemplo, el medio Immunocult™ (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá); Medio RPMI 1640™ completo (Gibco, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA); medio TexMACS™ (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Alemania); medio X-Vivo-15™ (Lonza, Basilea, Suiza); medio CTS Optimizer™ (Gibco, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). El medio de cultivo puede complementarse con albúmina de suero humano, o con un sustituto de suero humano, tal como el sustituto de suero CTS™ Immune Cell SR (Gibco, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), o el sustituto de suero KnockOut™ SR (Gibco, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). El suero o el sustituto del suero estará típicamente presente en 0,5 % a 15 %, tal como 2 % a 15 %, 3 % al 12 %, por ejemplo 5 % a 10 %, o cualquier porcentaje entre 2 % a 15 %.

El medio también puede contener opcionalmente citoquinas, tales como IL-2, IL-7 y/o IL-15. También pueden estar presentes otras citoquinas, tales como IL-22 y/o la IL-18. El medio de cultivo celular puede complementarse además con inhibidores de la glucólisis tales como la 2-deoxiglucosa y antibióticos.

Las poblaciones de linfocitos producidas mediante las técnicas de cultivo descritas en el presente documento pueden utilizarse para prevenir la GvHD, el rechazo del Huésped contra el Injerto y otras toxicidades celulares causadas por el tratamiento de diversos tipos de cánceres mediante terapias celulares adoptivas, tales como el síndrome de liberación de citoquinas (CRS), la tormenta de citoquinas, la neurotoxicidad y las transformaciones oncogénicas del injerto. Dichos cánceres incluyen, cánceres de próstata; cánceres de ovario; cánceres cervicales; cánceres colorrectales; cánceres intestinales; cánceres testiculares; cánceres de piel; cánceres de pulmón; cánceres de tiroides; cánceres óseos; cánceres de mama; cánceres de vejiga; cánceres uterinos; cánceres vaginales; cánceres de páncreas; cánceres de hígado; cánceres de riñón; cánceres de cerebro; cánceres de médula espinal; cánceres de boca; tumores de parótida; cánceres de sangre; linfomas, tal como los linfomas de células B; leucemias; tumores sólidos; tumores líquidos; y similares.

Los constructos que contienen módulos suicidas pueden administrarse a pacientes que reciben tratamiento para otros trastornos proliferativos de las células, incluyendo las afecciones precancerosas, los trastornos hematológicos y los trastornos inmunitarios, tales como los trastornos autoinmunitarios que incluyen, sin limitación, la enfermedad de Addison, la enfermedad celíaca, la diabetes mellitus de tipo 1, la enfermedad de Grave, la enfermedad de Hashimoto, la enfermedad inflamatoria intestinal, la esclerosis múltiple, la psoriasis, la artritis reumatoide, la esclerodermia y el lupus eritematoso sistémico.

## Experimental

Aspectos de la presente invención se ilustran además en el siguiente Ejemplo. Los aspectos que no están comprendidos en las reivindicaciones adjuntas se presentan únicamente con fines ilustrativos. Se ha procurado garantizar la exactitud de las cifras utilizadas (*por ejemplo*, cantidades, concentraciones, cambios porcentuales y similares), pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, la temperatura está en grados centígrados y la presión es la atmosférica o cercana a ella. Debe entenderse que este Ejemplo, aunque indica algunas realizaciones de la presente invención, se da a modo de ilustración solamente y no pretende limitar el alcance de la presente invención.

### Ejemplo 1

#### Diseño, clonación, producción de vectores virales y transducción en células T de un casete de inserción B2M/HLA-E

Este Ejemplo ilustra el diseño *in silico* y la clonación de un casete B2M/HLA-E y su introducción en el locus B2M de las células T. No son necesarios todos los pasos siguientes ni debe seguirse el orden de los mismos.

#### Diseño *in silico* y clonación

La proteína de fusión B2M/HLA-E se construyó como se describe en Gornalusse et al., Nat. Biotechnol. (2017) 35:765-772. Brevemente, la secuencia de aminoácidos del constructo de la proteína de fusión B2M/HLA-E comprendía una secuencia de señal B2M unida a la secuencia de señal HLA-G, unida a una región enlazadora, unida a la proteína madura B2M, unida a una segunda región enlazadora, y unida a la cadena pesada HLA-E. La secuencia de aminoácidos de la proteína de fusión B2M/HLA-E se muestra en la SEQ ID NO:57.

La secuencia de aminoácidos de la proteína de fusión se tradujo en ADN y la secuencia de nucleótidos se optimizó en codones para su expresión en células de mamífero utilizando la herramienta IDT codon optimizer (Integrated DNA Technologies, Inc., Coralville, IA). La secuencia de oligonucleótidos que codifica la proteína de fusión B2M/HLA-E (SEQ ID NO:65) se proporcionó a un fabricante comercial para su síntesis.

Se divulga que la secuencia de nucleótidos se clonó en un vector de virus adeno-asociado tipo 6 (AAV6). El AAV6 y otros virus AAV (como el AAV2 y el AAV9) pueden ser diseñados para suministrar elementos donantes de ADN a las células de mamíferos. Se divulga que, si la entrega de AAV se combina con un evento de escisión genómico y el elemento donante de ADN en el AAV está flanqueado por brazos de homología, el elemento donante de ADN puede insertarse sin problemas en el sitio de corte genómico mediante la reparación dirigida por homología (HDR), como se describe en Eyquem et al., Nature (2017) 543:113-117.

Con el fin de insertar específicamente la secuencia de nucleótidos B2M/HLA-E en el genoma de la célula huésped después de la escisión específica del sitio con una nucleasa programable tal como Cas9, se eligió un sitio objetivo en el gen B2M (ubicación del motivo: chr15:44711542-44711564 en hg38). Los sitios de destino y las guías para entregar nucleasas programables como Cas9 se determinan fácilmente utilizando técnicas tales como las descritas en Patente de EE.UU. Nos 9,580,701 9,650,617 9,688,972 9,771,601y 9,868,962. Se identificaron 500 pares de bases (pb), 5' y 3' del sitio de escisión, (SEQ ID NOS:66 y 67). Se divulga que para construir el casete de inserción AAV6, la secuencia promotora de mamíferos EF1 alfa se insertó corriente arriba de la secuencia de nucleótidos B2M/HLA-E (denominada "elemento donante"). Se divulga que las secuencias de nucleótidos del brazo de homología se añadieron a continuación a 5' y 3' del elemento donante invertido y se clonaron en el esqueleto del vector AAV6.

#### Producción de AAV recombinante

La producción de AAV recombinante (rAAV) se ha descrito en detalle en otros lugares (*véase, por ejemplo*, Halbert et al., Methods. Mol. Biol. (2018) 1687:257-266 Naso et al., BioDrugs (2017) 31:317-334). Brevemente, las células HEK 293T para la producción de rAAV se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC, CRL-11268™; Manassas, VA). El primer día, las células T HEK 293 se sembraron a  $4 \times 10^5$  células/ml en placas de 15 cm recubiertas de cultivo de tejidos en 20 ml de medio de crecimiento completo (DMEM complementado con 10 % de suero bovino fetal y 1 x de penicilina-estreptomicina) y se cultivaron a 37 °C al 5 % de CO<sub>2</sub>, en una incubadora. Se utilizaron células de placas de 6 x 15 cm por experimento. El segundo día, las células se transfectaron con el vector B2M/HLA-E-rAAV para la producción de rAAV mediante transfección con fosfato de calcio.

Por placa de 15 cm, se mezclaron mediante vórtex agua 856 µl, CaCl<sub>2</sub> 2M 124 µl y ADN vectorial total 20 µg (para la producción de AAV se combinaron los 3 plásmidos en relación 1:1:1, pHelper, pAAV-RC6 y pAAV-B2M/HLA-E, 6,7 µg cada uno). A continuación, se añadió lentamente 1 ml de HBS. Se añadieron 2 ml de mezcla de transfección gota a gota a la placa de 15 cm de células HEK 293T y la mezcla se distribuyó suavemente por la placa y se cultivó a 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> en una incubadora. Al tercer día, se retiró el sobrenadante de las células y se añadieron 20 ml de medio completo fresco.

Después de la transfección, 60-72 horas, las células se lavaron con tampón de gradiente (Tris 100 mM . pH 7,6; NaCl 500 mM ; MgCl<sub>2</sub> 100 mM ). Se añadieron, continuación, 0,5 ml de tampón de gradiente a cada placa y las células se

recogieron suavemente y se agruparon en un tubo de plástico de 50 ml. A continuación, se generó lisis de las células mediante 4 ciclos de congelación/descongelación. Brevemente, las células se congelaron utilizando nitrógeno líquido durante 10 minutos. Las células se descongelaron a 55 °C en un baño de agua y luego se trituraron con una aguja de jeringa para ayudar a la lisis celular utilizando una jeringa de 20 ml y una aguja de calibre 23. A continuación, la suspensión celular lisada se devolvió a 37 °C. Se añadió benzonasa (Sigma Aldrich, St Louis, MO) a razón de 1 µl por 5 ml y se incubó la suspensión celular a 37 °C durante 45 minutos. A continuación, la suspensión celular se centrifugó a 3700 rpm durante 15 minutos a 4 °C utilizando un rotor Beckman HS4.7™ (Beckman Coulter, Brea, CA). El sobrenadante que contenía las partículas virales se recogió en un tubo de plástico de 50 ml. A continuación, el sobrenadante se colocó en capas sobre un gradiente de 15 %/25 %/40 %/58 % (de arriba a abajo) de iodixanol (Optiprep™, NaCl, tampón de gradiente y rojo de fenol) (Optiprep, Axis-Shield, Dundee, Reino Unido). El sobrenadante del virus se centrifugó en el tubo sellado a través del gradiente de iodixanol utilizando un Beckman 70Ti fixed angle rotor™ (Beckman Coulter, Brea, CA) a 48.000 rpm durante 2 horas y 10 minutos. El virus purificado se extrajo del tubo con una jeringa y una aguja.

El virus se purificó aún más a partir del iodixanol mediante cromatografía de exclusión por tamaño de flujo gravitacional. La solución viral se hizo pasar por una columna de Sepharose G100 (Sephadex G-100 Superfine; GE Healthcare, Pittsburgh, PA), preequilibrada con tampón de gradiente, y el virus se recogió en fracciones de 1 ml. Se analizaron las fracciones que contenían virus midiendo la absorbancia a 260 nm y 280 nm con un espectrómetro UV (Nanodrop, ThermoFisher, Waltham, MA). Las fracciones que contenían virus con una baja absorción a 260 nm se agruparon. Las fracciones se concentraron utilizando un concentrador Vivaspín 15R™ de 30 kDa de corte (Vivaspin, Sartorius, 37079, Göttingen, Alemania).

#### Titulación del B2M/HLA-E-rAAV

El título viral se evaluó utilizando el kit qPCR de Takara (Takara, Mountain View, CA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### Preparación de Cas9

La sobreexpresión y purificación de la proteína CRISPR Cas9 (SpyCas9) de *Streptococcus pyogenes* a partir de vectores de expresión bacteriana, la expresión en *Escherichia coli* (BL21 (DE3)) y la purificación mediante cromatografía de afinidad, intercambio iónico y cromatografía de exclusión por tamaño, se ha descrito en detalle en otro lugar. Véase, por ejemplo, Jinek, et al., Science (2012) 337:816-821. SpyCas9 se produjo como se describe en Patente de EE.UU. Nos. 9,580,701 9,650,617 9,688,972 9,771,601 y 9,868,962. Los oligonucleótidos se compraron a un fabricante comercial. Los complejos Cas9-ribonucleoproteína (Cas9-RNPs) se formaron como se describe en las referencias anteriores.

#### Transducción de células T con B2M/HLA-E-rAAV

Las células T Pan se prepararon a partir de las PBMC del donante como se indica a continuación. Brevemente, se obtuvieron aproximadamente 350 millones de PBMC de donantes de AllCells (Alameda, CA). Las PBMC eran pequeñas alícuotas de un AllCells Apheresis Leuko Pak™, recogidas mediante el sistema de aféresis Spectra Optia™ (TERUMO BCT, INC., Lakewood, CO 80215). Aproximadamente 90 % de estas células eran células mononucleares (MNC).

Los productos frescos de MNC fueron procesados para agotar los glóbulos rojos (RBC) usando una solución de cloruro de amonio y fueron procesados para agotar las plaquetas por centrifugación. Las PBMC se enumeraron utilizando ácido acético con azul de metileno y un hemocitómetro (Countess II FL Automated Cell Counter™; ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). A continuación, se purificaron las células T Pan utilizando el robot de separación celular Robosep™ (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá) y el kit EasySep™ de aislamiento de células T humanas Pan (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá), siguiendo las instrucciones del fabricante. A continuación, las células T se cultivaron en medio Immunocult™ (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá), complementado con 5 % de suero bovino fetal (FBS) y 200 U/ml de interleucina-2 humana recombinante (rhIL-2).

Las células se activaron utilizando anti-CD3/anti-CD28 Gibco Dynabeads™ (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) a 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> en una incubadora. Después de 48 horas, se retiraron las perlas con un imán y las células se expandieron durante 24 horas en un medio Immunocult™ completo (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá), complementado con FBS 5 % y rhIL-2 200 U/ml.

#### Nucleofección y transducción de AAV6

Tras la expansión, las células T pan fueron nucleofectadas con Cas9-RNPs y transducidas con B2M/HLA-E-rAAV. Brevemente, las Cas9-RNPs se transfectaron en células T activadas (CD4+ y CD8+) utilizando el Nucleofector™ Shuttle System de 96 pocillos (Lonza, Allendale, NJ). Las Cas9-RNPs se dispensaron en un volumen final de 5 µl en pocillos individuales de una placa de 96 pocillos. El medio Immunocult™ (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá), complementado con FBS 5 % y rhIL-2 200 U/ml, se añadió a 100 µl/pocillo a una placa de cultivo de tejidos de 96

pocillos para células en suspensión. Las células T suspendidas se dispersaron por centrifugación durante 7 minutos a 200 x g, y las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) libre de calcio y magnesio. Las células se dispersaron por centrifugación durante 7 minutos a 200 x g, y las células se resuspendieron a 1 x10<sup>7</sup> células/ml en tampón de electroporación (Lonza, Allendale, NJ). Las células se contaron utilizando el Countess II Automated Cell Counter™ (Life Technologies; Grand Island, NY).

A continuación, se añadieron 20 µl de la suspensión celular a cada pozo individual que contenía 5 µl de complejos de ribonucleoproteínas, y todo el volumen de cada pocillo se transfirió a un pocillo de una placa Nucleocuvette™ de 96 pocillos (Lonza, Allendale, NJ). La placa se cargó en el Nucleofector™ Shuttle™ de 96 pocillos (Lonza, Allendale, NJ) y las células se nucleofectaron. Tras la nucleofección, se añadieron 80 µl de medio Immunocult™ completo (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá), complementado con FBS 5 % , rhIL-2 200 U/ml y 5,5 ml de antibiótico-antimicótico 100X, a cada pocillo, y se transfirieron 50 µl de la suspensión celular a una placa de cultivo celular de 96 pocillos que contenía 100 µl de medio Immunocult™ completo precalentado (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá). La placa se transfirió a una incubadora de cultivo de tejidos y se mantuvo a 37 °C en CO<sub>2</sub> 5 % de durante un día.

Después de 24 horas, 2 x 10<sup>5</sup> células T nucleofectadas fueron transducidas con 1 lote de rAAV. A continuación, las células T se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub> en un medio Immunocult™ completo (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá) hasta su posterior análisis.

**Tinción celular**

Las células T se evaluaron para la expresión de la superficie celular de la proteína objetivo utilizando análisis FACS y anticuerpos específicos de la proteína objetivo. Se centrifugaron 1 x10<sup>5</sup> células por muestra de células T activadas a 300 x g durante 5 minutos para pelar las células. El sobrenadante se decantó. Las células se resuspendieron en 100 µl de tampón FACS (1 x PBS con FBS 2,5 %).

Se utilizaron anticuerpos contra la proteína objetivo, tal como el anticuerpo anti-HLA-E marcado con BV421™ (Biolegend, San Diego, CA); el anticuerpo anti-B2M marcado con ficoeritrina (PE) (Biolegend, San Diego, CA); y/o el anti-HLA-A/B/C marcado con Alexa467™ (Biolegend, San Diego, CA). Los anticuerpos se añadieron a una dilución de 1:100 y las muestras se incubaron en hielo durante 60 minutos. Las muestras se lavaron tres veces añadiendo 100 µl de tampón FACS, y se centrifugaron a aproximadamente 300 x g durante 5 minutos.

A continuación, las células teñidas se clasificaron en un cribador Intellicyt iQue™ (Intellicyt, Sartorius, Albuquerque, NM), y se contaron las respectivas poblaciones de BV421™, o PE, o células fluorescentes positivas a los tintes equivalentes.

Después de la transducción, 5-8 días , las células T nucleofectadas y transducidas, las células T de tipo silvestre (WT), y las células nucleofectadas solamente, fueron contadas para las células HLA-A/B/C-negativas y B2M/HLA-E-positivas. Las células T WT tenían 0,023 % de fracciones HLA-A/B/negativas para C/positivas para HLA-E; las células sólo nucleofectadas tenían 2,58 % de fracciones HLA-A/B/negativas para C/positivas para HLA-E; y las células T nucleofectadas y transducidas con B2M/HLA-E AAV6 tenían 15 % de fracciones HLA-A/B/negativas para C/positivas para HLA-E.

Los constructos B2M/HLA-E pueden utilizarse como base para diseñar proteínas transmembrana quiméricas que contengan módulos suicidas.

Siguiendo la orientación de la presente memoria descriptiva , un experto en la técnica puede aislar otros tipos de linfocitos a partir de PBMC, nucleofectarlos y transducirlos con virus.

**Tabla 7:** Tabla de secuencias

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO: 1	FL BCMA	MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEP LKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECT CEDCIKSKPKVSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLP AALSATEIEKSISAR
SEQ ID NO:2	TM BCMA	ILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLL
SEQ ID NO:3	ECD BCMA	

ES 2 927 220 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:4	ICD BCMA	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSNTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNA RKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLE YTVVEECTCEDCIKSKPKVSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTN DYCKSLPAALSATEIEKSISAR RGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLETVVEECTCEDCIKS KPKVSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATE IEKSISAR
SEQ ID NO:5	ICD BCMA truncado I	
SEQ ID NO:6	ICD BCMA truncado II	RKINSEPLKDEFKNTG
SEQ ID NO:7	Truncamiento terminal N de BCMA ECD	GQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSNTPPLTCQRYCNASVTN SVKGTNA
SEQ ID NO:8	Truncamiento terminal C de BCMA ECD	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSNTPPLTCQ RYC
SEQ ID NO:9	ECD BCMA truncamiento terminal N y C	GQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSNTPPLTCQRYC
SEQ ID NO:10	CD8 alfa	MALPVTALLLPLALLLHAARPSQFRVSPLDRTWNLGETVEL KCQVLLSNPTSGCSWLFQPRGAAASPTFLLYLSQNKPKAAE GLDTQRFSGKRLGDTFVLTLSDFRRENEGYFCSALSNSIM YFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN HRNRRRVCKCPRPVVKS GDKP SLSARYV
SEQ ID NO:11	Secuencia de señales CD8 alfa	MALPVTALLLPLALLLHAARP
SEQ ID NO:12	CD8 alfa ECD	SQFRVSPLDRTWNLGETVELKCQVLLSNPTSGCSWLFQPRG AAASPTFLLYLSQNKPKAAEGLDTQRFSGKRLGDTFVL TLSDFRRENEGYFCSALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTP APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD
SEQ ID NO:13	CD8 alfa TM	IY1WAPLAGTCGVLLLSLVIT
SEQ ID NO:14	Tallo CD8 alfa	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFA CD
SEQ ID NO:15	Enlazador GSG	GSG
SEQ ID NO:16	Enlazador GGS	GGG
SEQ ID : 17	(G3S) enlazador	GGGS
SEQ ID NO:18	(G4S) enlazador	GGGGS
SEQ ID NO:19	(G5S) enlazador	GGGGGS
SEQ ID NO:20	(G3S) enlazador	GGGS
SEQ ID NO:21	(GGS)7 enlazador	GGSGGSGGSGGSGGSGGSGGS

ES 2 927 220 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:22	enlazador triple A	AAA
SEQ ID NO:23	(G3S)3	GGGSGGGSGGG
SEQ ID NO:24	(G4S)3	GGGGSGGGSGGGGS
SEQ ID NO:25	(G4S)4	GGGGSGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO:26	(G4S)5	GGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO:27	XTEN	SGSETPGTSESATPES
SEQ ID NO:28	B2M	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNF LNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWFSYL LYYTEFTPTKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM
SEQ ID NO:29	Secuencia de señales B2M	MSRSVALAVLALLSLSGLEA
SEQ ID NO:30	B2M maduro	IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL KNGERIEKVEHSDLSFSKDWFSYLLYYTEFTPTKDEYACRV NHVTLSQPKIVKWDRDM
SEQ ID NO:31	HLA-E	MVDGTLLELSEALALTQTWAGSHSLKYFHTSVSRPGRGEP RFISVGYVDDTQFVRFDNDAASPRMVPRAPWMEQEGSEY WDRETRSARDTAQIFRVNLRTRLRGYYNQSEAGSHTLQWMH GCELGPDRRFLRGYEQFAYDGKDYLTNEDLRSWTAVDTA AQISEQKSNDAEAEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGKETL LHLEPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQQ DGEHTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTC HVQHEGLPEPVTLRWKPASQPTPIVGHAGLVLLGSVVS GAV VAAVIWRKKSSGGKGGSYSKAEWSDSAQGSSEHSL
SEQ ID NO:32	Secuencia de señales HLA-E	MVDGTLLELSEALALTQTWA
SEQ ID NO:33	HLA-E maduro	GSHSLKYFHTSVSRPGRGEP RFISVGYVDDTQFVRFDND AASPRMVPRAPWMEQEGSEYWDRETRSARDTAQIFRVNLR TLRGYYNQSEAGSHTLQWMHGCELGPDRRFLRGYEQFA YDGKDYLTNEDLRSWTA VDTAAQISEQKSNDAEAEHQ RAYLEDTCVEWLHKYLEKGKETLLHLEPPKTHVTHHPISDHE ATLRCWALGFYPAEITLTWQQDGEHTQDTELVETRPAGD GTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPEPVTLRWKPAS QPTPIVGHAGLVLLGSVVS GAVVAAVIWRKKSSGGKGGSY SKAEWSDSAQGSSEHSL

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:34	HLA-G	MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGR GEPRFIAMGYVDDTQFVRFSDSACPRMEPRAPWVEQ EGPEYWEEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASSHT LQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDYLALNEDLRSWT AADTAAQISKRKCEANVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLEN GKEMLQRADPPKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEILL TWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTFOKWA AVVVPSG EEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLPTIPIMGIVAGLVVL AAVVTGA AVAVLWRKKSSD
SEQ ID NO:35	Secuencia de señales HLA-G	MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWA
SEQ ID NO:36	Secuencia de señal HLA-G corta	VMAPRTLFL
SEQ ID NO:37	CD34	MLVRRGARAGPRMPRGWTALCLLSLLPSGFMSLDNNGTAT PELPTQGTFSNVSTNVS YQETTTTPSTLGSTSLHPVSQHNE ATTNITETT VKFTSTSVITSVYGNTNSSVQSQTSVISTVFTTP ANVSTPETTLKPSLSPGNVSDLSTTSTSLATSPTKPYTSSSPILS DIKAEIKCSGIREVKLTQGICLEQNKTS SCAEFKKDRGEGLAR VLCGEEQADADAGAQC SLLLAQSEVRPQCLLVLANR TEISSKLQLMKKHQSDLKKGILDFTEQDVASHQSYSQKTLI ALVTSGALLAVLGITGYFLMNRWSPTGERLGEDPYYTE NGGGQGYSSPGTSPEAQGKASVNRGAQENGTGQATS RNGHSARQHVVADTEL
SEQ ID NO:38	Epitopo CD34 Q10	ELPTQGTFSNVSTNVS
SEQ ID NO:39	CD19 CAR	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLPDIQMTQTSSLSASLGDRVTIS CRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT GSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWGETTYNSALKS RLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTD DTAIYYCAKHYYYGGSYA MDYWGQGT SVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKG KHLCPSPFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFVW RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR -----
SEQ ID NO:40	Secuencia de señales CAR hGCMF	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLP

ES 2 927 220 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:41	Anti-CD19 scFv	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDG TVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIAT YFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEV KLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKG
		LEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ TDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVS
SEQ ID NO:42	Bisagra CAR	AAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPS KP
SEQ ID NO:43	TM CAR TM	FWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVR
SEQ ID NO:44	P2A	ATNFSLKQAGDVEENPGP
SEQ ID NO:45	T2A	EGRGSLTCDGVEENPGP
SEQ ID NO:46	BCMA ECD TM ICD truncado I	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRGSGLL GMANIDLEKSRGTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDS DHCFLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISA R
SEQ ID NO:47	BCMA ECD TM ICD truncado II	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEP LKDEFKNTG
SEQ ID NO:48	BCMA ECD CD8 TM	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNATTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVIT
SEQ ID NO:49	BCMA ECD enlazador CD8TM	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAAAATTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVIT
SEQ ID NO:50	BCMA ECD CD34 CD8TM	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAELPTQGTFSNVSTNVSIYWAPLAGTCGV LLLSLVIT
SEQ ID NO:51	BCMA ECD CD34 CD8 CD8TM	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAELPTQGTFSNVSTNVSTTTPAPRPPTPAP TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGT CGVLLLSLVIT

ES 2 927 220 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:52	señalización scFv SM CAR	<p>MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTTSSLSASLGDRVTIS            CRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSG            SSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT            GSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV            SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNLSALKS            RLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDATAIYYCAKHYYYGGSYA            MDYWGQGTSVTVSSMLQ MAGQCSQNEYFDSLHACIPCQL            R CSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAAAIEVMYPPPYL            DNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWL VVVGGVLAC            YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY            QPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG            RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM</p>
		<p>AEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ            ALPPR</p>
SEQ ID NO:53	señalización SM scFv CAR	<p>MLQ MAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLR CSSNTPPLTCQRYC            NASVTNSVKGTNADIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDI            SKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD            YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGS            GKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLP            DYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNLSALKSRLTIKD            NSKSQVFLKMNSLQTDATAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWG            QGTSVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP            PLFPGPSKPFVWL VVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSR            LLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSR            SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG            GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH            DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>

ES 2 927 220 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:54	señalización scFvD1SMS scFvD2 CAR	MLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTSSLSASLGDRVTIS CRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSG SSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVS LPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTII KDNSKSQVFLKMNSLQTDDBTAIYYCAKHYYYGGSYAMDY WGQGTSVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHL CPSPLFPGPSKPFVWLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVRSK RSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVK FRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRG KGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
SEQ ID NO:55	señalización SS scFv SM CAR	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNADIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDI SKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGS GKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLP DYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKD NSKSQVFLKMNSLQTDDBTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWG QGTSVTVSSMLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSTP PLTCQRYCNASVTNSVKGTNAAAAIEVMYPPPYLDNEKSNG TIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVVVGGVLACYLLVTV AFIIWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSRVKFRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:56	Interruptor suicida CAR-T2A-BCMA	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTTSSLSASLGDRVTIS CRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSG SSGGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT GSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTV SGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNLSALKS RLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDEAIYYCAKHYYYGGSYA MDYWGGQTSVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKG KHLCPSPFPGPSKPFWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGSGEGRGS LLTCGDVEENPGPMLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRC SSNTPLTCQRYCNASVTNSVKGTNATTPAPRPPTPAPTAS QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGV LLLSLVIT
SEQ ID NO:57	Fusión HLA-G/B2M/HLA-E	VMAPRTLFLGGGSGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAEN GKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKD WSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSLKYFHTSVSRPGRGEPR FISVGYVDDTQFVRFNDAAASPRMVPRAPWMEQEGSEYWD RETRSARDTAQIFRVNLRTLRGYYNQSEAGSHTLQWMHGCE LGPDRRFLRGYEQFAYDGKDYLTNEDLRSWTAVDTAAQIS EQKSNDAEAEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGKETLLHLEP PKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQQDGEGHT QDTELVETRPAGDGTQKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEG LPEPVTLRWKPASQPTIPIVGHAGLVLLGSSVVSAGAVVAIVW RKKSSGGKGGSYSKAEWSDSAQGSSEHSL

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:58	Fusión B2M/HLA-E	IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKN GERIEKVEHSDLFSKDWFSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNH VTLSQPKIVKWDRDMGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSL KYFHTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFDND AASPRMVPRAPWMEQEGSEYWDRETRSARDTAQIFRVNLR TLRGYYNQSEAGSHTLQWMHGCELGPDRRFLRGYEQFAYD GKDYLTLNEDLRSWTAVDTAAQISEQKSNDAEAEHQRAYL EDTCVEWLHKYLEKGKETLLHLEPPKTHVTHHPISDHEATL RCWALGFYPAEITLTWQQDGEGHTQDTEL VETRPAGDGTFO KWA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPVTLRWKPASQPTIP IVGIIAGLVLLGSVVS GAVVA AVIWRKKSSGGKGGSYSKAE WSDSAQGSSEHSL
SEQ ID NO:59	Fusión HLA-G/BCMA/B2M/HLA-E	VMAPRTLFLGSGMLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCS SNTPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAGSGIQRTPKIQVYSRHP AENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSD LSFSKDWFSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVK WDRDMGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSLKYFHTSVSRP GRGEPFISVGYVDDTQFVRFDNDAASPRMVPRAP WMEQEGSEYWDRETRSARDTAQIFRVNLR TLRGYYNQSEA GSHTLQWMHGCELGPDRRFLRGYEQFAYDGKDYLTLNE DLRSWTAVDTAAQISEQKSNDAEAEHQRAYLEDTCVE WLHKYLEKGKETLLHLEPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALG FYPAEITLTWQQDGEGHTQDTEL VETRPAGDGTFOKWA AV VPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPVTLRWKPASQPTIPIVGI IAGLVLLGSVVS GAVVA AVIWRKKSSGGKGGSYSKAEWSDS AQGSSEHSL
SEQ ID NO:60	Fusión HLA-G/B2M/BCMA/HLA-E	VMAPRTLFLGGGGSGGGSGGGSIQRTPKIQVYSRHPAEN GKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLFSKDW WSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM GSGMLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSNTPLTCQ RYCNASVTNSVKGTNAGSGGSHSLKYFHTSVSRPGRGEPFI SVGYVDDTQFVRFDNDAASPRMVPRAPWMEQEGSEYWDR ETRSARDTAQIFRVNLR TLRGYYNQSEAGSHTLQWMHGCEL GPDRRFLRGYEQFAYDGKDYLTLNEDLRSWTAVDTAAQISE QKSNDAEAEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGKETLLHLEPP KTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQQDGEGHTQ DTEL VETRPAGDGTFOKWA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGL PEPVTLRWKPASQPTIPIVGI IAGLVLLGSVVS GAVVA AVIWR KKSSGGKGGSYSKAEWSDSAQGSSEHSL

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:61	Fusión HLA- G/BCMA/B2M/BCMA/H LA-E	VMAPRTLFLMLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSNT PPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAIQRTPKIQVYSRHPAENGKS NFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSF YLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDMMLQ MAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSNTPPLTCQRYCNASV TNSVKGTNAGSHSLKYFHTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQF VRFNDAAASPRMVPRAPWMEQEGSEYWDRET RSARDTAQIFRVNLRTRLRGYYNQSEAGSHTLQWMHGCELG PDRRFLRGYEQFAYDGKDYLTNEDLRSWTAVDTAAQISEQ KSNDASEAEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGKETLLHLEPPK THVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQQDGEGHTQD TELVETRPAGDGTQKWA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLP EPVTLRWKSPASQPTIPVGIAGLVLLGSVVSGAVVA AVIWR KKSSGGKGGSYSKAEWSDSAQGSSEHSL
SEQ ID NO:62	Fusión BCMA/B2M/HLA-E	MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSNTPPLTCQRYC NASVTNSVKGTNAGSGIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNC YVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYY TEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDMGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGSHSLKYFHTSVSRPGRGEPFISVGYVDD TQFVRFNDAAASPRMVPRAPWMEQEGSEYWDRETRSARDT AQIFRVNLRTRLRGYYNQSEAGSHTLQWMHGCELG PDRRFLR GYEQFAYDGKDYLTNEDLRSWTAVDTAAQISEQKSNDASE AEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGKETLLHLEPPKTHVTHHP ISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQQDGEGHTQDTEL VETR PAGDGTQKWA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPVTLRW KPASQPTIPVGIAGLVLLGSVVSGAVVA AVIWRKKSSGGK GGSYSKAEWSDSAQGSSEHSL

ES 2 927 220 T3

SEQ ID NO:63	HLA-G/B2M/HLA-E 2A BCMA SM	<p>VMAPRTLFLGGGSGGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAEN  GKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEK VEHSDFSFSKD  WSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM  GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSLKYFHTSVSRPGRGEP  FISVGYVDDTQFVRFDNDAASPRMVP RAPWMEQEGSEYWD  RETRSARDTAQIFRVNLR LTRGYYNQSEAGSHTLQWMHGCE  LGPDRRFLRGYEQFAYDGKDYLT LNEDLRSWTAVDTAAQIS  EQKSNDAEAEHQRAYLEDTCVEWLHKYLEKGKETLLHLEP  PKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITL TWQQDGEGHT  QDELVETRPAGDGT FQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEG  LPEPVTLRWK PASQPTIPIVGHAGL VLLG SVVSGAVVA AVIW  RKKSSGKGGSYSKAEWSDSAQGS ESHSLEGRG SLLTCGDV  EENPGPMLQ MAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSNTPPLT  CQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFLMFLLR  KINSEPLKDEFKNTGSGLLG MANIDLEKSRTGDEIILPRGLE Y</p>
		<p>TVEECTCEDCIKSKPKVDS DHCFLPAMEEGATILVTTKTND  YCKSLPAALSATEIEKSISAR</p>
SEQ ID NO:64	CD28	<p>MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCK  YSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKT  GFNCDGKLGNESVTFY LQNLVYNQTDIYFCKIEVMYPPPYL  DNEKSNGTIIHVKGKHL CPSPLFPGPSKPFVVLVVGGVLAC  YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSYMNMTPRRPGPTRKH Y  QPYAPPRDFAAYRS</p>

ES 2 927 220 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:65	Secuencia de nucleótidos de fusión HLA-G/B2M/HLA-E inversa	<p>TACAAGCTGTGAGACTCAGACCCCTGGGCACTGTCGCTCC  ACTCAGCCTTAGAGTAGCTCCCTCCTTTTCCACCTGAGCTC  TTCTTCCTCCATATCACAGCAGCAACCACAGCTCCAGAGA  CCACAGATCCAAGGAGAACCAGGCCAGCAATGATGCCCA  CGATGGGGATGGTGGGCTGGGAAGCCGGCTTCCATCTCA  GGGTGACGGGCTCGGGTAGCCCCTCATGCTGCACATGGCA  CGTGTATCTCTGCTCCTCTCCAGAAGGCACCACCACAGCT  GCCCCACTTCTGGAAGGTTCCATCCCCTGCAGGCCTGGTCT  CCACGAGCTCCGTGTCCTGGGTATGGCCCTCCCATCCTG  CTGCCAGGTCAGTGTGATCTCCGAGGGTAGAAGCCCAG  GGCCCAGCACCTCAGGGTGGCCTCATGGTCAGAGATGGG  GTGGTGAGTCACGTGTGTCTTTGGGGCTCCAGGTGAAGC  AGCGTCTCCTTCCCCTTCTCCAGGTATTTGTGGAGCCACTC  CACGCATGTGTCTTCCAGGTAGGCTCTCTGGTGTCCGCC  TCAGAAGCATCATTGACTTTTGCTCGGAGATCTGAGCCG  CCGTGTCCACCGGGTCCAGGAGCGCAGGTCCTCATTAG  GGTGAGATAATCCTTGCCGTCGTAGGCGAACTGTTTCATAC  CCGCGGAGGAAGCGCCCGTCGGGCCCCAGCTCGCAGCCA  TGCATCCACTGCAGGGTGTGAGACCCGGCCTCGCTCTGAT  TGTAGTAGCCGCGCAGCGTCCGCAGATTCACTCGAAAAT  CTGTGCGGTGTCCCTGGCGCTCCGTGTCTCCCGGTCCCAA  TACTCTGACCCCTCCTGCTCCATCCACGGCGCCCCGGCA</p>
		<p>CCATCCTCGGACTCGCGGCGTCGTTGTGGAAGCGCACGAA  CTGGGTGTCGTCCACGTAGCCACAGAGATGAAGCGGGG  CTCCCCGCGGCCGGCCGGGACACGGAAGTGTGGAAATA  CTTCAAGGAGTGGGATCCAGACCCTCCGCCACCAGATCCC  CCTCCTCCAGAACCGCCTCCGCCAGACCCTCCGCCACCcatg  tctgatcccacttaactatcttgggctgtgacaaagtcacatggttcacacGgcaggcatactca  tcttttcagtggggtgaattcagtgtagtacaagatagaaa gaccagtccttgcctgaaagac  aagctcgaatgctccacttttcaattctctccattctcagtaagtcaactfcaatgctggatgat  gaaaccagacacatagcaattcaggaaattgactttccattctctgctggatgacgtgagtaaa  cctgaatcttggagtagctgatGGAGCCGCGCCTCCGCTACCGCCT  CCTCCGCTCCCACCTCCACCCAGAAAGAGGGTCCGTGGTG  CCATTACagcctccaggccagaaaagagagtagcgcgagcacagctaagccacgg  agcgagacat</p>

(continuación)

SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
SEQ ID NO:66	Brazo homológico izquierdo de B2M	TTCCAAGCTGTAGTTATAAACAGAAGTTCTCCTTCTGCT AGGTAGCATTCAAAGATCTTAATCTTCTGGGTTTCCGTTTT CTCGAATGAAAAATGCAGGTCCGAGCAGTTAACTGGCTG GGGCACCATTAGCAAGTCACTTAGCATCTCTGGGGCCAGT CTGCAAAGCGAGGGGGCAGCCTTAATGTGCCTCCAGCCTG AAGTCCTAGAATGAGCGCCCGGTGTCCAAGCTGGGGCG CGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACAGCAA ACTCACCCAGTCTAGTGCATGCCTTCTTAAACATCACGAG ACTCTAAGAAAAGGAAACTGAAAACGGGAAAGTCCCTCT CTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGACAGGTGA CGGTCCCTGCGGGCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGT TTAATATAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCGGGCATTCTCTGA AGCTGACAGCATTCTGGGCCGAGA
SEQ ID NO:67	Brazo homológico derecho de B2M	GCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCTAT CCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCCTCTGGTCCTTCCT CTCCCGCTCTGCACCCTCTGTGGCCCTCGCTGTGCTCTCTC GCTCCGTGACTTCCCTTCTCCAAGTTCTCCTTGGTGGCCCG CCGTGGGGCTAGTCCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGGC GGGGTGGCCTGGGAGTGGGGAAGGGGTGCGCACCCGGG ACGCGCGCTACTTGCCCTTTCGGCGGGGAGCAGGGGAG ACCTTTGGCCTACGGCGACGGGAGGGTCTGGGACAAAAGTT TAGGGCGTCGATAAGCGTCAGAGCGCCGAGGTTGGGGGA GGGTTTCTCTCCGCTCTTTCGCGGGGCCTCTGGCTCCCC AGCGCAGCTGGAGTGGGGGACGGGTAGGCTCGTCCAAA GGCGCGGCGCTGAGGTTTGTGAACGCGTGGAGGGGCGCT TG

**LISTA DE SECUENCIAS**

- 5 <110> CARIBOU BIOSCIENCES, INC. STENGEL, Katharina
- <120> COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS DE MÓDULOS SUICIDAS
- 10 <130> CBI034.30
- <150> US 62/739,483
- <151>2018-10-01
- 15 <160> 67
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- 20 <211> 184
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

ES 2 927 220 T3

<220>  
 <221> característica misc  
 <222> (1)..(184)  
 <223> BCMA FL

5

<400> 1

```

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
 1           5           10           15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
           20           25           30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
           35           40           45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
 50           55           60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile
 65           70           75           80

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

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu
           100          105          110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys
 115          120          125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe
 130          135          140

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

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu
           165          170          175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
           180
    
```

10

<210> 2  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>  
 <223> Sintético: H. sapiens partial, BCMA TM

20

<400> 2

```

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

Phe Val Leu Met Phe Leu Leu
           20
    
```

<210> 3  
 <211> 54

ES 2 927 220 T3

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Sintético: H. sapiens partial, BCMA ECD

<400> 3

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala  
50

10

<210> 4

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Sintético: H. sapiens partial, BCMA ICD

<400> 4

20

Arg Lys Ile Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Gly Leu Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr  
20 25 30

Gly Asp Glu Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu  
35 40 45

Cys Thr Cys Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp  
50 55 60

His Cys Phe Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val  
65 70 75 80

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

Ala Thr Glu Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg  
100 105

<210> 5

<211> 93

25

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: H. sapiens parcial, BCMA ICD truncado I

30

<400> 5

ES 2 927 220 T3

Arg Gly Ser Gly Leu Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser  
1 5 10 15

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

Glu Glu Cys Thr Cys Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp  
35 40 45

Ser Asp His Cys Phe Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile  
50 55 60

Leu Val Thr Thr Lys Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala  
65 70 75 80

Leu Ser Ala Thr Glu Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg  
85 90

5

<210> 6  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10

<220>  
<223> Sintético: H. sapiens parcial, BCMA ICD truncado II

15

<400> 6

Arg Lys Ile Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly  
1 5 10 15

20

<210> 7  
<211> 49  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

25

<220>  
<223> Sintético: H. sapiens parcial, truncamiento de terminal N BCMA ECD  
<400> 7

Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His Ala Cys  
1 5 10 15

Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys  
20 25 30

Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser Val Lys Gly Thr Asn  
35 40 45

Ala

30

<210> 8  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

35

<220>  
<223> Sintético: H. sapiens parcial, truncamiento de terminal N BCMA ECD

ES 2 927 220 T3

<400> 8

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys

5

35

40

<210> 9

<211> 36

<212> PRT

10

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: H. sapiens parcial, truncamiento de terminales N y C de BCMA ECD

15

<400> 9

Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His Ala Cys  
1 5 10 15

Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys  
20 25 30

Gln Arg Tyr Cys  
35

20

<210> 10

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25

<220>

<221> característica misc

<222> (1)..(235)

<223> CD8 alfa

30

<400> 10

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

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

Trp Asn Leu Gly Glu Thr Val Glu Leu Lys Cys Gln Val Leu Leu Ser  
35 40 45

Asn Pro Thr Ser Gly Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala  
50 55 60

Ala Ser Pro Thr Phe Leu Leu Tyr Leu Ser Gln Asn Lys Pro Lys Ala  
65 70 75 80

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

ES 2 927 220 T3

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

Tyr Phe Cys Ser Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe  
 115 120 125

Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg  
 130 135 140

Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg  
 145 150 155 160

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly  
 165 170 175

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

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His  
 195 200 205

Arg Asn Arg Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val Val Lys Ser  
 210 215 220

Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val  
 225 230 235

5 <210> 11  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens partial, secuencia señal CD8 alfa

<400> 11

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

His Ala Ala Arg Pro  
 20

15 <210> 12  
 <211> 161  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, CD8 alfa ECD

<400> 12

ES 2 927 220 T3

Ser Gln Phe Arg Val Ser Pro Leu Asp Arg Thr Trp Asn Leu Gly Glu  
 1 5 10 15

Thr Val Glu Leu Lys Cys Gln Val Leu Leu Ser Asn Pro Thr Ser Gly  
 20 25 30

Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala Ala Ser Pro Thr Phe  
 35 40 45

Leu Leu Tyr Leu Ser Gln Asn Lys Pro Lys Ala Ala Glu Gly Leu Asp  
 50 55 60

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

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

Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu  
 100 105 110

Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala  
 115 120 125

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg  
 130 135 140

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys  
 145 150 155 160

Asp

5 <210> 13  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, CD8 alfa TM

<400> 13

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

Ser Leu Val Ile Thr  
 20

15 <210> 14  
 <211> 45  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, tallo CD8 alfa

<400> 14

ES 2 927 220 T3

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

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

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

5 <210> 15  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<223> Sintético: GSG enlazador

<400> 15

Gly Ser Gly  
1

15 <210> 16  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>  
<223> Sintético: GGS enlazador

<400> 16

Gly Gly Ser  
1

25 <210> 17  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

30 <220>  
<223> Sintético: (G3S) enlazador

<400> 17

Gly Gly Gly Ser  
1

35 <210> 18  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

40 <220>  
<223> Sintético: (G4S) enlazador

<400> 18

Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5

45 <210> 19  
<211> 6

ES 2 927 220 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

5  
<220>  
<223> Sintético: (G5S) enlazador

<400> 19

Gly Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5

10  
<210> 20  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

15  
<220>  
<223> Sintético: (G3S) enlazador

<400> 20

20  
Gly Gly Gly Ser  
1

25  
<210> 21  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

30  
<220>  
<223> Sintético: (GGS)7 enlazador

<400> 21

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Ser  
20

35  
<210> 22  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

40  
<220>  
<223> Sintético: triple A enlazador

<400> 22

45  
Ala Ala Ala  
1

50  
<210> 23  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> Sintético: (G3S)3

55  
<400> 23

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
1 5 10

ES 2 927 220 T3

5  
 <210> 24  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Sintético: (G4S)3

10  
 <400> 24

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

15  
 <210> 25  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Sintético: (G4S)4

20  
 <400> 25

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser  
 20

25  
 <210> 26  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

30  
 <220>  
 <223> Sintético: (G4S)5

<400> 26

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 20 25

35  
 <210> 27  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Sintético: XTEN

40  
 <400> 27

Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser  
 1 5 10 15

45  
 <210> 28  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> característica misc

50  
 <210> 28  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

55  
 <220>  
 <221> característica misc

ES 2 927 220 T3

<222> (1)..(119)  
 <223> B2M

<400> 28

5

```

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
 1           5           10           15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
          20           25           30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
          35           40           45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
          50           55           60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
 65           70           75           80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
          85           90           95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
          100          105          110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
          115
  
```

10

<210> 29  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>  
 <223> Sintético: H. sapiens partial, secuencia de señal B2M  
 <400> 29

```

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
 1           5           10           15

Gly Leu Glu Ala
          20
  
```

20

<210> 30  
 <211> 99  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, B2M maduro

30

<400> 30

ES 2 927 220 T3

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu  
 1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro  
 20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys  
 35 40 45

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

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys  
 65 70 75 80

Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp  
 85 90 95

Arg Asp Met

5 <210> 31  
 <211> 358  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <221> característica misc  
 <222> (1)..(358)  
 <223> HLA-E

<400> 31

ES 2 927 220 T3

Met Val Asp Gly Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Glu Ala Leu Ala Leu  
1 5 10 15

Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe His Thr Ser  
20 25 30

Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser Val Gly Tyr  
35 40 45

Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala Ala Ser Pro  
50 55 60

Arg Met Val Pro Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Ser Glu Tyr  
65 70 75 80

Trp Asp Arg Glu Thr Arg Ser Ala Arg Asp Thr Ala Gln Ile Phe Arg  
85 90 95

Val Asn Leu Arg Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly  
100 105 110

Ser His Thr Leu Gln Trp Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Arg  
115 120 125

Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr  
130 135 140

Leu Thr Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val Asp Thr Ala  
145 150 155 160

Ala Gln Ile Ser Glu Gln Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala Glu His  
165 170 175

Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His Lys Tyr  
180 185 190

ES 2 927 220 T3

Leu Glu Lys Gly Lys Glu Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro Lys Thr  
 195 200 205

His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys  
 210 215 220

Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Gln  
 225 230 235 240

Asp Gly Glu Gly His Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro  
 245 250 255

Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser  
 260 265 270

Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro  
 275 280 285

Glu Pro Val Thr Leu Arg Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr Ile Pro  
 290 295 300

Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val Val Ser  
 305 310 315 320

Gly Ala Val Val Ala Ala Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser Gly Gly  
 325 330 335

Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala Gln Gly  
 340 345 350

Ser Glu Ser His Ser Leu  
 355

5 <210> 32  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, secuencia de señal HLA-E  
 <400> 32

Met Val Asp Gly Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Glu Ala Leu Ala Leu  
 1 5 10 15

Thr Gln Thr Trp Ala  
 20

15 <210> 33  
 <211> 337  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, HLA-E maduro  
 <400> 33

ES 2 927 220 T3

Gly Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe His Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly  
 1 5 10 15

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

Phe Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala Ala Ser Pro Arg Met Val Pro Arg  
 35 40 45

Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Ser Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr  
 50 55 60

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

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln  
 85 90 95

Trp Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly  
 100 105 110

Tyr Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu  
 115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu  
 130 135 140

Gln Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu  
 145 150 155 160

Glu Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys  
 165 170 175

Glu Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro Lys Thr His Val Thr His His  
 180 185 190

Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe  
 195 200 205

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Gln Asp Gly Glu Gly His  
 210 215 220

ES 2 927 220 T3

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr  
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg  
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Glu Pro Val Thr Leu  
260 265 270

Arg Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile  
275 280 285

Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val Val Ser Gly Ala Val Val Ala  
290 295 300

Ala Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr  
305 310 315 320

Ser Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala Gln Gly Ser Glu Ser His Ser  
325 330 335

Leu

5 <210> 34  
<211> 338  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

10 <220>  
<221> característica misc  
<222> (1)..(338)  
<223> HLA-G

15 <400> 34

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

Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe  
20 25 30

Ser Ala Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala  
35 40 45

Met Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ser  
50 55 60

ES 2 927 220 T3

Ala Cys Pro Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly  
65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Glu Thr Arg Asn Thr Lys Ala His Ala Gln  
85 90 95

Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser  
100 105 110

Glu Ala Ser Ser His Thr Leu Gln Trp Met Ile Gly Cys Asp Leu Gly  
115 120 125

Ser Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly  
130 135 140

Lys Asp Tyr Leu Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala  
145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Lys Arg Lys Cys Glu Ala Ala Asn Val  
165 170 175

Ala Glu Gln Arg Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu  
180 185 190

His Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Met Leu Gln Arg Ala Asp Pro  
195 200 205

Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Val Phe Asp Tyr Glu Ala Thr  
210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Ile Leu Thr  
225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Val Glu Leu Val Glu  
245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val  
260 265 270

Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu  
275 280 285

Gly Leu Pro Glu Pro Leu Met Leu Arg Trp Lys Gln Ser Ser Leu Pro  
290 295 300

Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala Gly Leu Val Val Leu Ala Ala  
305 310 315 320

Val Val Thr Gly Ala Ala Val Ala Ala Val Leu Trp Arg Lys Lys Ser  
325 330 335

Ser Asp

5 <210> 35  
<211> 24  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

ES 2 927 220 T3

<220>

<223> Sintético: H. sapiens parcial, secuencia de señal HLA-G

5

<220>

<221> característica misc

<222> (1)..(24)

<223> CD34

10

<400> 35

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

Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala  
20

<210> 36

<211> 9

15

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: H. sapiens parcial, secuencia de señal corta HLA-G

20

<400> 36

Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu  
1 5

25

<210> 37

<211> 385

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 37

Met Leu Val Arg Arg Gly Ala Arg Ala Gly Pro Arg Met Pro Arg Gly  
1 5 10 15

Trp Thr Ala Leu Cys Leu Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly Phe Met Ser  
20 25 30

Leu Asp Asn Asn Gly Thr Ala Thr Pro Glu Leu Pro Thr Gln Gly Thr



ES 2 927 220 T3

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

Gly Ile Thr Gly Tyr Phe Leu Met Asn Arg Arg Ser Trp Ser Pro Thr  
 305 310 315 320

Gly Glu Arg Leu Gly Glu Asp Pro Tyr Tyr Thr Glu Asn Gly Gly Gly  
 325 330 335

Gln Gly Tyr Ser Ser Gly Pro Gly Thr Ser Pro Glu Ala Gln Gly Lys  
 340 345 350

Ala Ser Val Asn Arg Gly Ala Gln Glu Asn Gly Thr Gly Gln Ala Thr  
 355 360 365

Ser Arg Asn Gly His Ser Ala Arg Gln His Val Val Ala Asp Thr Glu  
 370 375 380

Leu  
 385

5 <210> 38  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, CD34 Q10 epítipo  
 <400> 38

Glu Leu Pro Thr Gln Gly Thr Phe Ser Asn Val Ser Thr Asn Val Ser  
 1 5 10 15

15 <210> 39  
 <211> 489  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> Sintético: CD19 CAR  
 <400> 39

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro  
 1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser  
 20 25 30

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

ES 2 927 220 T3

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly  
50 55 60

Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val  
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr  
85 90 95

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

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
115 120 125

Thr Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser  
130 135 140

Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala  
145 150 155 160

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu  
165 170 175

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

Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser  
195 200 205

Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln  
210 215 220

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

Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr  
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu  
260 265 270

Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr  
275 280 285

Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro  
290 295 300

ES 2 927 220 T3

Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu  
305 310 315 320

Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val  
325 330 335

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr  
340 345 350

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro  
355 360 365

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser  
370 375 380

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

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

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

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

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

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

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
485

<210> 40  
<211> 22  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> Sintético: H. sapiens parcial, secuencia de señal CAR hGCMF

<400> 40

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro  
1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro  
20

<210> 41  
<211> 244  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> Sintético: Anti-CD19 scFv

ES 2 927 220 T3

<400> 41

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln  
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly  
 100 105 110

Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys  
 115 120 125

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

Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser  
 145 150 155 160

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile  
 165 170 175

Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu  
 180 185 190

Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn  
 195 200 205

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

Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser  
 225 230 235 240

5 Val Thr Val Ser

<210> 42

<211> 42

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: CAR bisagra

ES 2 927 220 T3

<400> 42

Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu  
1 5 10 15

Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro  
20 25 30

Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro  
35 40

<210> 43

5

<211> 28

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: H. sapiens parcial, CAR TM

10

<400> 43

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu  
1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg  
20 25

<210> 44

15

<211> 19

<212> PRT

<213> teschovirus-1 porcino

<220>

20

<221> característica misc

<222> (1)..(19)

<223> P2A

25

<400> 44

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn  
1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 45

30

<211> 18

<212> PRT

<213> Thosea asigna virus

<220>

35

<221> característica misc

<222> (1)..(18)

<223> T2A

<400> 45

40

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro  
1 5 10 15

Gly Pro

<210> 46

<211> 170

ES 2 927 220 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, BCMA ECD TM ICD truncado I

5

<400> 46

```

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1           5           10           15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
           20           25           30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
           35           40           45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
           50           55           60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Gly Ser
65           70           75           80

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

Asp Glu Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys
           100          105          110

Thr Cys Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His
           115          120          125

Cys Phe Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr
           130          135          140

Thr Lys Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala
145          150          155          160

Thr Glu Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
           165          170
    
```

10

<210> 47  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> Sintético: H. sapiens parcial, BCMA ECD TM ICD truncado II

15

20

<400> 47

ES 2 927 220 T3

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
 1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
 20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
 35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu  
 50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile  
 65 70 75 80

Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly  
 85 90

5 <210> 48  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Sintético: BCMA ECD CD8 TM

<400> 48

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
 1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
 20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
 35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr  
 50 55 60

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala  
 65 70 75 80

Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe  
 85 90 95

Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val  
 100 105 110

Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr  
 115 120

15 <210> 49  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20

ES 2 927 220 T3

<220>

<223> Sintético: BCMA ECD enlazador CD8TM

<400> 49

5

```

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
 1           5           10           15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
           20           25           30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
           35           40           45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ala Ala Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
           50           55           60

Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
 65           70           75           80

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
           85           90           95

Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
           100           105           110

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
           115           120
    
```

10

<210> 50

<211> 91

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15

<220>

<223> Sintético: BCMA ECD CD34 CD8TM

<400> 50

```

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
 1           5           10           15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
           20           25           30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
           35           40           45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Glu Leu Pro Thr Gln Gly Thr Phe Ser Asn
           50           55           60

Val Ser Thr Asn Val Ser Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
 65           70           75           80

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
           85           90
    
```

20

<210> 51

<211> 136

ES 2 927 220 T3

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Sintético: BCMA ECD CD34 CD8 CD8TM

<400> 51

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

<210> 52

<211> 543

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> Sintético: señalización scFv SM CAR

<400> 52

ES 2 927 220 T3

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro  
1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser  
20 25 30

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

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly  
50 55 60

Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val  
65 70 75 80

ES 2 927 220 T3

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr  
85 90 95

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

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
115 120 125

Thr Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser  
130 135 140

Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala  
145 150 155 160

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu  
165 170 175

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

Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser  
195 200 205

Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln  
210 215 220

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

Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr  
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Met Leu Gln Met Ala  
260 265 270

Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His Ala Cys  
275 280 285

Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys  
290 295 300

Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser Val Lys Gly Thr Asn  
305 310 315 320

Ala Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn



ES 2 927 220 T3

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
 1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
 20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
 35 40 45

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

Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser  
 65 70 75 80

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly  
 85 90 95

Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val  
 100 105 110

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr  
 115 120 125

Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln  
 130 135 140

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 145 150 155 160

Thr Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser  
 165 170 175

Thr Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala  
 180 185 190

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu  
 195 200 205

Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu  
 210 215 220

Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser  
 225 230 235 240

Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln



ES 2 927 220 T3

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Sintético: señalización scFvD1 SMS scFvD2 CAR

<400> 54

```

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro
 1                               5                               10                               15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser
 20                               25                               30

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

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly
 50                               55                               60

Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val
 65                               70                               75                               80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr
 85                               90                               95

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

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 115                              120                              125

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

Ser Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn
 145                              150                              155                              160

Thr Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn
 165                              170                              175

Ser Val Lys Gly Thr Asn Ala Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro

```



ES 2 927 220 T3

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu  
 435 440 445

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg  
 450 455 460

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met  
 465 470 475 480

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly  
 485 490 495

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp  
 500 505 510

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
 515 520 525

<210> 55  
 <211> 575  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Sintético: señalización SS scFv SM CAR

10

<400> 55

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
 1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
 20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
 35 40 45

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

Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser  
 65 70 75 80

Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly  
 85 90 95

Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val  
 100 105 110

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr



ES 2 927 220 T3

Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys  
 370 375 380

Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val  
 385 390 395 400

Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala  
 405 410 415

Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser  
 420 425 430

Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His  
 435 440 445

Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg  
 450 455 460

Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln  
 465 470 475 480

Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp  
 485 490 495

Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro  
 500 505 510

Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp  
 515 520 525

Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg  
 530 535 540

Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr  
 545 550 555 560

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

<210> 56

<211> 630

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: interruptor suicida CAR-T2A-BCMA

10

<400> 56

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro



ES 2 927 220 T3

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

ES 2 927 220 T3

Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu  
515 520 525

His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro  
530 535 540

Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser Val Lys  
545 550 555 560

Gly Thr Asn Ala Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala  
565 570 575

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg  
580 585 590

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys  
595 600 605

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu  
610 615 620

Leu Ser Leu Val Ile Thr  
625 630

<210> 57  
<211> 480  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> Sintético: fusión HLA-G/B2M/HLA-E

<400> 57

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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln  
20 25 30

Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn  
35 40 45

Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu  
50 55 60

Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe  
65 70 75 80

5

10

ES 2 927 220 T3

Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro  
85 90 95

Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser  
100 105 110

Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser  
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
130 135 140

Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe His Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg  
145 150 155 160

Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe  
165 170 175

Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala Ala Ser Pro Arg Met Val Pro Arg Ala  
180 185 190

Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Ser Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Arg  
195 200 205

Ser Ala Arg Asp Thr Ala Gln Ile Phe Arg Val Asn Leu Arg Thr Leu  
210 215 220

Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Trp  
225 230 235 240

Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly Tyr  
245 250 255

Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu Asp  
260 265 270

Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu Gln  
275 280 285

Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu Glu  
290 295 300

Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro  
325 330 335

ES 2 927 220 T3

Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr  
 340 345 350

Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Gln Asp Gly Glu Gly His Thr  
 355 360 365

Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe  
 370 375 380

Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr  
 385 390 395 400

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

Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala  
 420 425 430

Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val Val Ser Gly Ala Val Val Ala Ala  
 435 440 445

Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser  
 450 455 460

Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala Gln Gly Ser Glu Ser His Ser Leu  
 465 470 475 480

<210> 58  
 <211> 456  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Sintético: fusión B2M/HLA-E

<400> 58

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu  
 1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro  
 20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys  
 35 40 45

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

5  
 10

ES 2 927 220 T3

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys  
 65 70 75 80

Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp  
 85 90 95

Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe His  
 115 120 125

Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser Val  
 130 135 140

Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala Ala  
 145 150 155 160

Ser Pro Arg Met Val Pro Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Ser  
 165 170 175

Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Ser Ala Arg Asp Thr Ala Gln Ile  
 180 185 190

Phe Arg Val Asn Leu Arg Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu  
 195 200 205

Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Trp Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro  
 210 215 220

Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys  
 225 230 235 240

Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val Asp  
 245 250 255

Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu Gln Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala  
 260 265 270

Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His  
 275 280 285

Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys Glu Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro  
 290 295 300

Lys Thr His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu  
 305 310 315 320

ES 2 927 220 T3

Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp  
 325 330 335

Gln Gln Asp Gly Glu Gly His Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr  
 340 345 350

Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val  
 355 360 365

Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly  
 370 375 380

Leu Pro Glu Pro Val Thr Leu Arg Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr  
 385 390 395 400

Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val  
 405 410 415

Val Ser Gly Ala Val Val Ala Ala Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser  
 420 425 430

Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala  
 435 440 445

Gln Gly Ser Glu Ser His Ser Leu  
 450 455

<210> 59  
 <211> 525  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Sintético: fusión HLA-G/BCMA/B2M/HLA-E

<400> 59

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

Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His Ala  
 20 25 30

Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro Leu Thr  
 35 40 45

Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser Val Lys Gly Thr  
 50 55 60

5

10

ES 2 927 220 T3

Asn Ala Gly Ser Gly Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser  
 65 70 75 80

Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val  
 85 90 95

Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly  
 100 105 110

Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp  
 115 120 125

Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys  
 130 135 140

Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys  
 145 150 155 160

Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 165 170 175

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser His Ser  
 180 185 190

Leu Lys Tyr Phe His Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro  
 195 200 205

Arg Phe Ile Ser Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe  
 210 215 220

Asp Asn Asp Ala Ala Ser Pro Arg Met Val Pro Arg Ala Pro Trp Met  
 225 230 235 240

Glu Gln Glu Gly Ser Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Ser Ala Arg  
 245 250 255

Asp Thr Ala Gln Ile Phe Arg Val Asn Leu Arg Thr Leu Arg Gly Tyr  
 260 265 270

Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Trp Met His Gly  
 275 280 285

Cys Glu Leu Gly Pro Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Phe  
 290 295 300

Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser  
 305 310 315 320

ES 2 927 220 T3

Trp Thr Ala Val Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu Gln Lys Ser Asn  
 325 330 335

Asp Ala Ser Glu Ala Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Asp Thr Cys  
 340 345 350

Val Glu Trp Leu His Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys Glu Thr Leu Leu  
 355 360 365

His Leu Glu Pro Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp  
 370 375 380

His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu  
 385 390 395 400

Ile Thr Leu Thr Trp Gln Gln Asp Gly Glu Gly His Thr Gln Asp Thr  
 405 410 415

Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp  
 420 425 430

Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His  
 435 440 445

Val Gln His Glu Gly Leu Pro Glu Pro Val Thr Leu Arg Trp Lys Pro  
 450 455 460

Ala Ser Gln Pro Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val  
 465 470 475 480

Leu Leu Gly Ser Val Val Ser Gly Ala Val Val Ala Ala Val Ile Trp  
 485 490 495

Arg Lys Lys Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Lys Ala Glu  
 500 505 510

Trp Ser Asp Ser Ala Gln Gly Ser Glu Ser His Ser Leu  
 515 520 525

<210> 60

<211> 520

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: fusión HLA-G/B2M/BCMA/HLA-E

<400> 60

5

10

ES 2 927 220 T3

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

ES 2 927 220 T3

Phe Arg Val Asn Leu Arg Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu  
 260 265 270

Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Trp Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro  
 275 280 285

Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys  
 290 295 300

Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val Asp  
 305 310 315 320

Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu Gln Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala  
 325 330 335

Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His  
 340 345 350

Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys Glu Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro  
 355 360 365

Lys Thr His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu  
 370 375 380

Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp  
 385 390 395 400

Gln Gln Asp Gly Glu Gly His Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr  
 405 410 415

Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val  
 420 425 430

Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly  
 435 440 445

Leu Pro Glu Pro Val Thr Leu Arg Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr  
 450 455 460

Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val  
 465 470 475 480

Val Ser Gly Ala Val Val Ala Ala Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser  
 485 490 495

Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala  
 500 505 510

Gln Gly Ser Glu Ser His Ser Leu  
 515 520

5 <210> 61  
 <211> 553  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Sintético: fusión HLA-G/BCMA/B2M/BCMA/HLA-E

ES 2 927 220 T3

<400> 61

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

Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His Ala Cys Ile Pro  
 20 25 30

Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg  
 35 40 45

Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile  
 50 55 60

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

Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser  
 85 90 95

Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val  
 100 105 110

Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu  
 115 120 125

Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg  
 130 135 140

Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg  
 145 150 155 160

Asp Met Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe  
 165 170 175

Asp Ser Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser  
 180 185 190

ES 2 927 220 T3

Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr  
 195 200 205

Asn Ser Val Lys Gly Thr Asn Ala Gly Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe  
 210 215 220

His Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser  
 225 230 235 240

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala  
 245 250 255

Ala Ser Pro Arg Met Val Pro Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly  
 260 265 270

Ser Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Ser Ala Arg Asp Thr Ala Gln  
 275 280 285

Ile Phe Arg Val Asn Leu Arg Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser  
 290 295 300

Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Trp Met His Gly Cys Glu Leu Gly  
 305 310 315 320

Pro Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly  
 325 330 335

Lys Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val  
 340 345 350

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu Gln Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu  
 355 360 365

Ala Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu Glu Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu  
 370 375 380

His Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys Glu Thr Leu Leu His Leu Glu Pro  
 385 390 395 400

Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr  
 405 410 415

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr  
 420 425 430

Trp Gln Gln Asp Gly Glu Gly His Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu  
 435 440 445

ES 2 927 220 T3

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val  
 450 455 460

Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu  
 465 470 475 480

Gly Leu Pro Glu Pro Val Thr Leu Arg Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro  
 485 490 495

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

Val Val Ser Gly Ala Val Val Ala Ala Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser  
 515 520 525

Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser  
 530 535 540

Ala Gln Gly Ser Glu Ser His Ser Leu  
 545 550

<210> 62  
 <211> 513  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Sintético: fusión BCMA/B2M/HLA-E

<400> 62

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
 1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
 20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
 35 40 45

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

Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu  
 65 70 75 80

Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu  
 85 90 95

5

10

ES 2 927 220 T3

Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser  
 100 105 110

Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr  
 115 120 125

Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu  
 130 135 140

Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly  
 145 150 155 160

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 165 170 175

Gly Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe His Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly  
 180 185 190

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln  
 195 200 205

Phe Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala Ala Ser Pro Arg Met Val Pro Arg  
 210 215 220

Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Ser Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr  
 225 230 235 240

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

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln  
 260 265 270

Trp Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly  
 275 280 285

Tyr Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu  
 290 295 300

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu  
 325 330 335

Glu Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys  
 340 345 350

ES 2 927 220 T3

Glu Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro Lys Thr His Val Thr His His  
 355 360 365

Pro Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe  
 370 375 380

Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Gln Asp Gly Glu Gly His  
 385 390 395 400

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

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg  
 420 425 430

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Glu Pro Val Thr Leu  
 435 440 445

Arg Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile  
 450 455 460

Ala Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val Val Ser Gly Ala Val Val Ala  
 465 470 475 480

Ala Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr  
 485 490 495

Ser Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala Gln Gly Ser Glu Ser His Ser  
 500 505 510

Leu

<210> 63

<211> 682

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Sintético: HLA-G/B2M/HLA-E 2A BCMA SM

<400> 63

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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln  
 20 25 30

5

10

ES 2 927 220 T3

Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn  
 35 40 45

Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu  
 50 55 60

Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe  
 65 70 75 80

Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro  
 85 90 95

Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser  
 100 105 110

Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser  
 115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 130 135 140

Ser His Ser Leu Lys Tyr Phe His Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg  
 145 150 155 160

Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe  
 165 170 175

Val Arg Phe Asp Asn Asp Ala Ala Ser Pro Arg Met Val Pro Arg Ala  
 180 185 190

Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Ser Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Arg  
 195 200 205

Ser Ala Arg Asp Thr Ala Gln Ile Phe Arg Val Asn Leu Arg Thr Leu  
 210 215 220

Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Leu Gln Trp  
 225 230 235 240

Met His Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Arg Arg Phe Leu Arg Gly Tyr  
 245 250 255

Glu Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Leu Thr Leu Asn Glu Asp  
 260 265 270

Leu Arg Ser Trp Thr Ala Val Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Glu Gln  
 275 280 285

ES 2 927 220 T3

Lys Ser Asn Asp Ala Ser Glu Ala Glu His Gln Arg Ala Tyr Leu Glu  
 290 295 300

Asp Thr Cys Val Glu Trp Leu His Lys Tyr Leu Glu Lys Gly Lys Glu  
 305 310 315 320

Thr Leu Leu His Leu Glu Pro Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro  
 325 330 335

Ile Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr  
 340 345 350

Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln Gln Asp Gly Glu Gly His Thr  
 355 360 365

Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe  
 370 375 380

Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr  
 385 390 395 400

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

Trp Lys Pro Ala Ser Gln Pro Thr Ile Pro Ile Val Gly Ile Ile Ala  
 420 425 430

Gly Leu Val Leu Leu Gly Ser Val Val Ser Gly Ala Val Val Ala Ala  
 435 440 445

Val Ile Trp Arg Lys Lys Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser  
 450 455 460

Lys Ala Glu Trp Ser Asp Ser Ala Gln Gly Ser Glu Ser His Ser Leu  
 465 470 475 480

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro  
 485 490 495

Gly Pro Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe  
 500 505 510

Asp Ser Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser  
 515 520 525

Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr



ES 2 927 220 T3

Arg Glu Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu  
 50 55 60

Val Cys Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser  
 65 70 75 80

Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr  
 85 90 95

Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys  
 100 105 110

Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser  
 115 120 125

Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro  
 130 135 140

Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly  
 145 150 155 160

Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile  
 165 170 175

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met  
 180 185 190

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro  
 195 200 205

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser  
 210 215 220

- 5 <210> 65
- <211> 1502
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial
  
- 10 <220>
- <223> Sintético: Secuencia de nucleótidos de fusión HLA-G/B2M/HLA-E inversa
  
- <400> 65
  
- tacaagctgt gagactcaga cccctgggca ctgtcgctcc actcagcctt agagtagctc 60
- cctccttttc cacctgagct cttcttctctc catatcacag cagcaaccac agctccagag 120
- accacagatc caaggagaac caggccagca atgatgccca cgatgggat ggtgggctgg 180
- gaagccggct tccatctcag ggtgacgggc tcgggtagcc cctcatgctg cacatggcac 240
- gtgtatctct gctcctctcc agaaggcacc accacagctg cccacttctg gaaggttcca 300

ES 2 927 220 T3

tcccctgcag gcctggctc caccagctcc gtgtcctggg tatggccctc cccatcctgc 360  
 tgccagggtca gtgtgatctc cgcagggtag aagcccaggg cccagcacct cagggtggcc 420  
 tcatgggtcag agatgggggtg gtgagtcacg tgtgtctttg ggggctccag gtgaagcagc 480  
 gtctccttcc ccttctccag gtatttggg agccactcca cgcattgtgtc ttccaggtag 540  
 gctctctggg gctccgcctc agaagcatca tttgactttt gctcggagat ctgagccgcc 600  
 gtgtccaccg cgggtccagga gcgcagggtcc tcatcagggtg tgagataatc cttgccgtcg 660  
 taggcgaact gttcataccc gcggaggaag cgcctcgtcg gccccagctc gcagccatgc 720  
 atccactgca ggggtgtgaga cccggcctcg ctctgattgt agtagccgcg cagcgtccgc 780  
 agattcactc ggaaaatctg tgcggtgtcc ctggcgctcc gtgtctcccg gtcccaatac 840  
 tctgaccctt cctgctccat ccacggcgcc cgcggcacca tcctcggact cgcggcgctcg 900  
 ttgtcgaagc gcacgaactg ggtgtcgtcc acgtagccca cagagatgaa gcggggctcc 960  
 ccgcggcccg gccgggacac ggaagtgtgg aaatacttca aggagtggga tccagaccct 1020  
 ccgccaccag atccccctcc tccagaaccg cctccgccag accctccgcc acccatgtct 1080  
 cgatcccact taactatctt gggctgtgac aaagtacat ggttcacacg gcaggcatac 1140  
 tcatcttttt cagtgggggt gaattcagtg tagtacaaga gatagaaaga ccagtccttg 1200  
 ctgaaagaca agtctgaatg ctccactttt tcaattctct ctccattctt cagtaagtca 1260  
 acttcaatgt cggatggatg aaaccagac acatagcaat tcaggaaatt tgactttcca 1320  
 ttctctgctg gatgacgtga gtaaacctga atctttggag tacgctggat ggagccgccg 1380  
 cctccgctac cgcctcctcc gctcccacct ccaccagaa agagggtccg tggtgccatt 1440  
 acagcctcca gccagaaaag agagagtagc gcgagcacag ctaaggccac ggagcgagac 1500  
 at 1502

5 <210> 66  
 <211> 500  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <221> característica misc  
 <222> (1)..(500)  
 <223> Brazo de homologación izquierdo B2M

15 <400> 66

ttcccaagct gtagttataa acagaagttc tccttctgct aggtagcatt caaagatctt 60  
 aatcttctgg gtttccgttt tctcgaatga aaaatgcagg tccgagcagt taactggctg 120  
 gggcaccatt agcaagtcac ttagcatctc tggggccagt ctgcaaagcg agggggcagc 180  
 cttaatgtgc ctccagcctg aagtcctaga atgagcgcgc ggtgtcccaa gctggggcgc 240

ES 2 927 220 T3

gcaccccaga tcggagggcg ccgatgtaca gacagcaaac tcacccagtc tagtgcattgc 300  
 cttcttaaac atcacgagac tctaagaaaa gaaactgaa aacgggaaag tccctctctc 360  
 taacctggca ctgcgtcgct ggcttgaga caggtgacgg tccctgcggg ccttgcctg 420  
 attggctggg cacgcgttta atataagtgg aggcgtcgcg ctggcgggca ttcctgaagc 480  
 tgacagcatt cgggccgaga 500

5 <210> 67  
 <211> 480  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <221> característica misc  
 <222> (1)..(480)  
 <223> Brazo de homologación derecho B2M

15 <400> 67

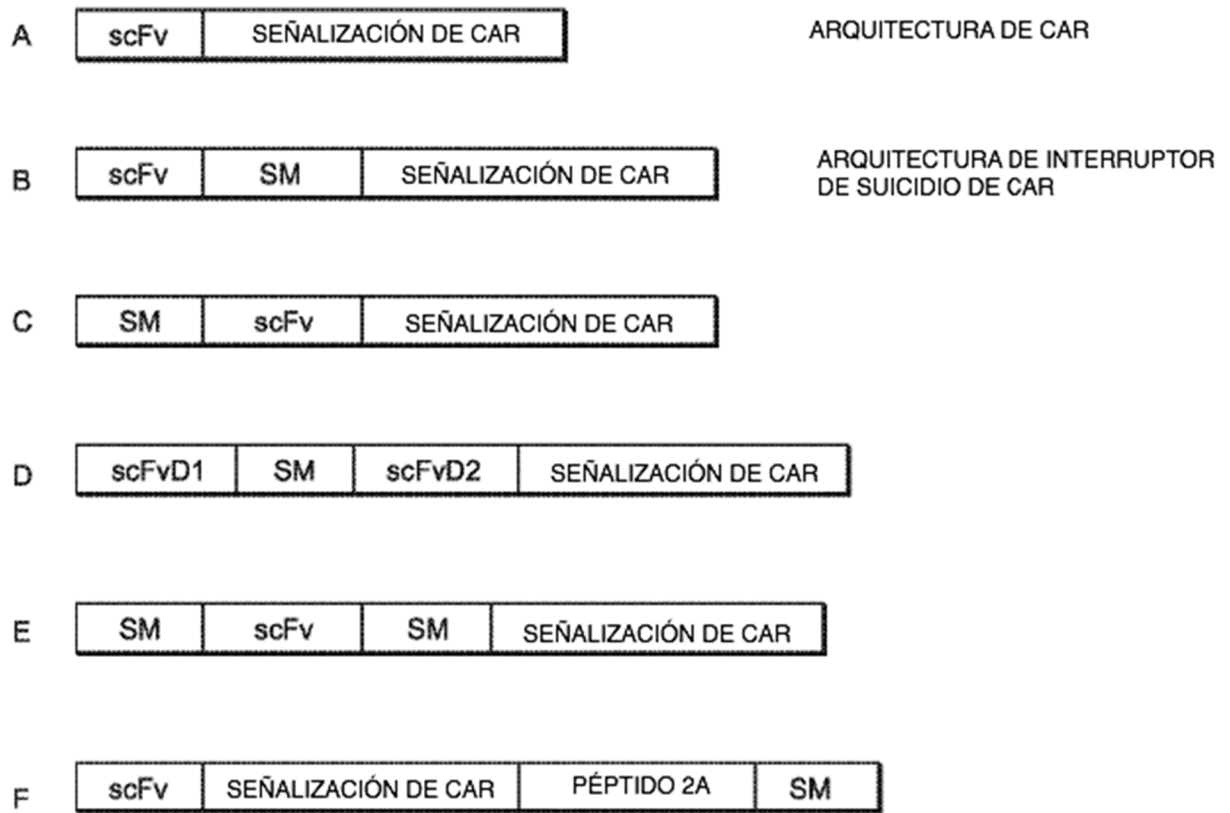
gctgtgctcg cgctactctc tctttctggc ctggaggcta tccagcgtga gtctctccta 60  
 ccctcccgt ctggctcttc ctctcccgt ctgcaccctc tgtggccctc gctgtgctct 120  
 ctgctccgt gacttccctt ctccaagtgc tccttgggtg cccgccgtgg ggctagtcca 180  
 gggctggatc tcggggaagc ggcgggggtg cctgggagtg gggaaggggg tgccgacccg 240  
 ggacgcgcgc tacttgcccc ttctggcggg gacgagggga gacctttggc ctacggcgac 300  
 gggagggctc ggacaaagt tagggcgtcg ataagcgtca gagcgcagag gttgggggag 360  
 ggtttctctt ccgctcttcc gcggggcctc tggtccccc agcgcagctg gagggggga 420  
 cgggtaggct cgtcccaaag gcgcggcgct gaggtttgtg aacgcgtgga ggggcgcttg 480

## REIVINDICACIONES

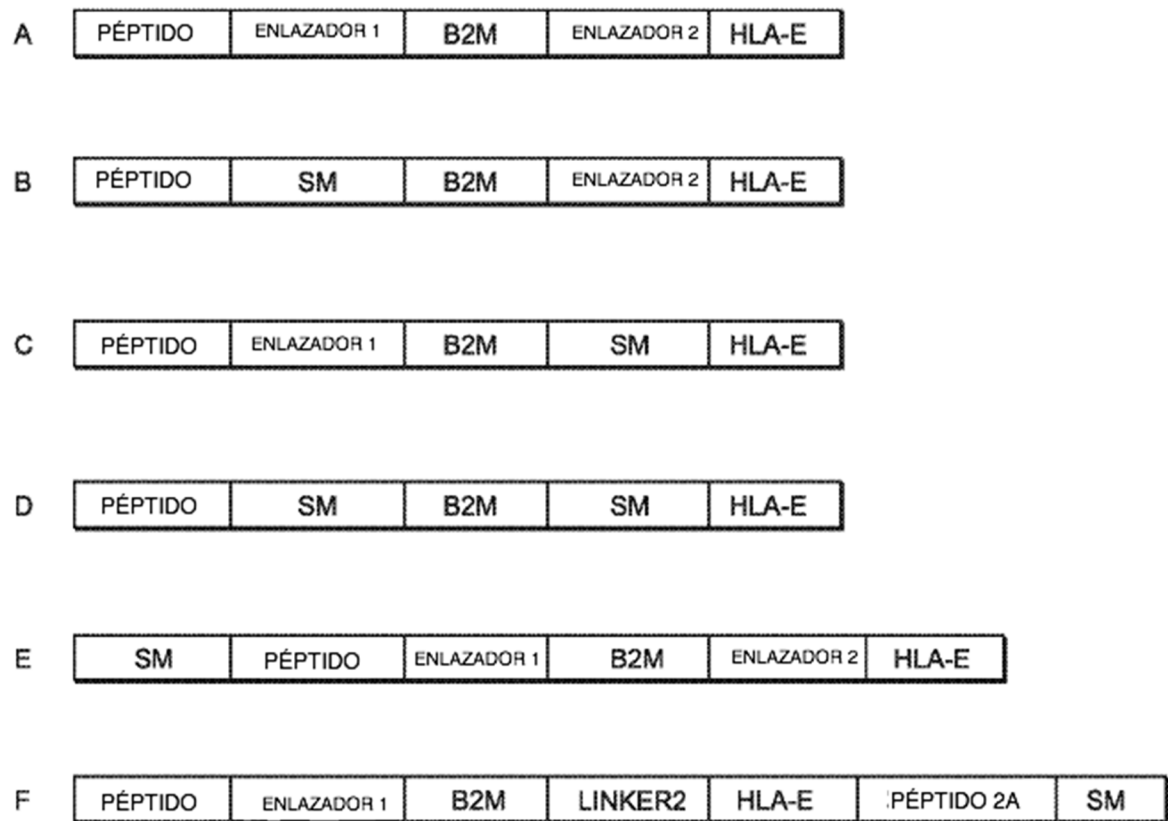
1. Una proteína transmembrana quimérica que comprende:
- 5 uno o más módulos suicidas, en los que el módulo suicida comprende un dominio de unión a ligando seleccionado del grupo que consiste en un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, una porción de un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, un mimótopo de un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, y combinaciones de los mismos; y
- 10 un dominio transmembrana.
2. La proteína transmembrana quimérica de la reivindicación 1, en la que el dominio de unión al ligando comprende los aminoácidos 6 a 41 de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 80 por ciento de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 3, y el dominio de unión al ligando conserva la actividad de unión al ligando.
- 15 3. La proteína transmembrana quimérica de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que la proteína transmembrana quimérica comprende además un dominio de membrana intracelular del antígeno de maduración de células B o un fragmento del mismo, opcionalmente en la que el dominio de membrana intracelular del antígeno de maduración de células B o el fragmento del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO: 4, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos 80 por ciento de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, o SEQ ID NO: 4.
- 20 4. La proteína transmembrana quimérica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el dominio transmembrana comprende un dominio transmembrana CD8.
- 25 5. La proteína transmembrana quimérica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la proteína transmembrana quimérica comprende además una secuencia enlazadora que une el dominio de unión al ligando con el dominio transmembrana, opcionalmente en la que la secuencia enlazadora se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, y SEQ ID NO: 27.
- 30 6. La proteína transmembrana quimérica de la reivindicación 1, en la que la proteína transmembrana quimérica comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, y SEQ ID NO: 51.
- 35 7. La proteína transmembrana quimérica de la reivindicación 1 que comprende además un receptor de antígeno quimérico que comprende un fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única y un dominio de señalización del receptor de antígeno quimérico.
- 40 8. La proteína transmembrana quimérica de la reivindicación 7,
- en la que el módulo suicida está situado entre el fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única y el dominio de señalización del receptor de antígeno quimérico, o
- en la que la proteína transmembrana quimérica comprende además un péptido de autoescisión situado entre el módulo suicida y el receptor antigénico quimérico.
- 45 9. La proteína transmembrana quimérica de la reivindicación 8, en la que el módulo suicida ha situado el terminal N- en el fragmento variable de inmunoglobulina de cadena única y en el dominio de señalización del receptor de antígeno quimérico.
- 50 10. Una célula modificada que comprende la proteína transmembrana quimérica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, opcionalmente en la que la célula modificada es una célula T CAR.
11. Un anticuerpo capaz de unirse al dominio de unión al ligando de la proteína transmembrana quimérica de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para su uso en el tratamiento de los efectos de la GvHD, el rechazo del Huésped contra el Injerto, el síndrome de liberación de citoquinas (CRS), la tormenta de citoquinas, y la reducción de las transformaciones oncogénicas de las células modificadas genéticamente administradas, opcionalmente en el que el anticuerpo se conjuga con una molécula citotóxica, y la molécula conjugada anticuerpo-citotóxica se selecciona del grupo que consiste en GSK2857916, MEDI2228, AMG 224 y HDP-101.
- 55 12. Un procedimiento para fabricar una célula modificada, comprendiendo el procedimiento introducir en una célula un ácido nucleico que codifica una proteína transmembrana quimérica que comprende:
- 60 uno o más módulos suicidas, en el que el módulo suicida comprende un dominio de unión a ligando seleccionado del grupo que consiste en un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, una porción de un dominio extracelular de antígeno de maduración de células B, un mimótopo de un dominio
- 65

extracelular de antígeno de maduración de células B, y combinaciones de los mismos; y un dominio transmembrana;  
en el que el ácido nucleico se introduce en la célula *in vitro*.

- 5 13. El procedimiento de la reivindicación 12, en el que el ácido nucleico es introducido en la célula por un virus.

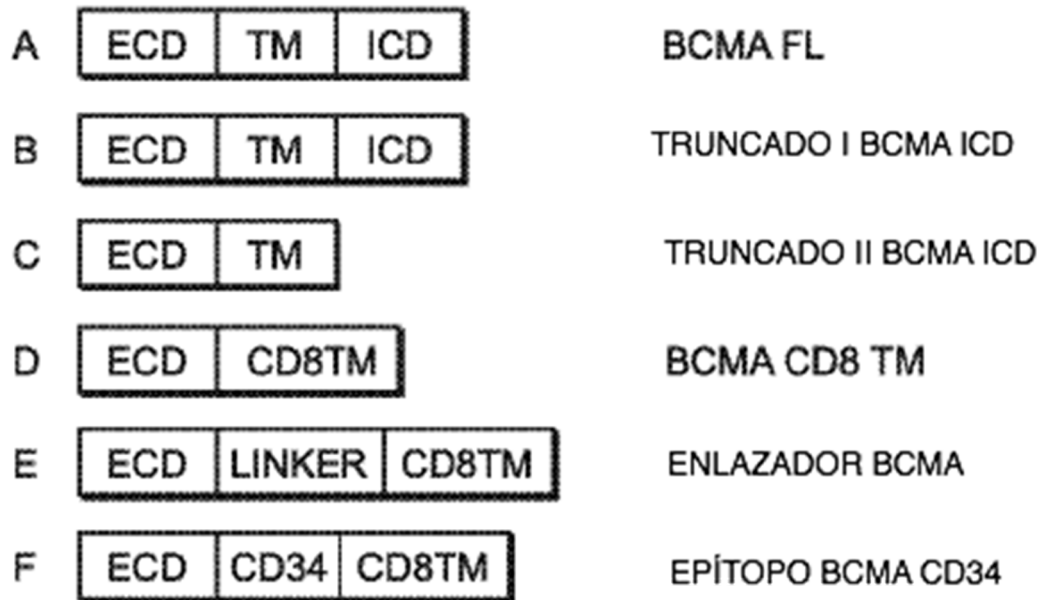


**FIG. 1**



**FIG. 2**

MÓDULOS DE INTERRUPTOR DE SUICIDIO BCMA



**FIG. 3**