

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 834 070**

51 Int. Cl.:

C07K 14/705 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

C12N 5/0783 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2012 E 18175738 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2020 EP 3392270**

54 Título: **Receptores de células T que reconocen MAGE restringido por HLA-A1 o HLA-Cw7**

30 Prioridad:

15.09.2011 US 201161535086 P

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

16.06.2021

73 Titular/es:

**THE UNITED STATES OF AMERICA, AS
REPRESENTED BY THE SECRETARY
DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN
SERVICES (100.0%)**

**National Institutes of Health Office of Technology
Transfer 6011 Executive Boulevard Suite 325 Msc
7660
Bethesda, MD 20852-7660, US**

72 Inventor/es:

**ROBBINS, PAUL F.;
ROSENBERG, STEVEN A.;
ZHU, SHIQI;
FELDMAN, STEVEN A. y
MORGAN, RICHARD A.**

74 Agente/Representante:

MILTENYI , Peter

ES 2 834 070 T3

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

DESCRIPCIÓN

Receptores de células T que reconocen MAGE restringido por HLA-A1 o HLA-Cw7

Esta invención se realizó con el respaldo gubernamental con el número de proyecto ZIABC010984 por los Institutos Nacionales de Salud, Instituto Nacional del Cáncer. El gobierno tiene ciertos derechos en esta invención.

5 Referencia cruzada a la solicitud relacionada

Esta solicitud reivindica prioridad con respecto a la solicitud estadounidense n.º 61/535.086 presentada el 15 de septiembre de 2011.

Material presentado electrónicamente

10 Una lista de secuencias de nucleótidos/aminoácidos legible por ordenador se presenta electrónicamente y se identifica como sigue: un archivo de 52.162 bytes ASCII (texto) llamado "710922ST25.TXT" con fecha del 22 de agosto de 2012.

Antecedentes de la invención

15 La terapia celular adoptiva (Adoptive Cell Therapy, ACT) implica la transferencia de células T reactivas en pacientes, incluyendo la transferencia de células T reactivas con tumores en pacientes de cáncer. La terapia celular adoptiva usando células T que seleccionan como diana epítomos de células T restringidos por antígeno de leucocitos humanos (HLA)-A2 ha sido exitosa en provocar la regresión de tumores en algunos pacientes. Sin embargo, pacientes que carecen de expresión de HLA-A2 no pueden tratarse con células T que seleccionan como diana epítomos de células T restringidos por HLA-A2. Una limitación de este tipo crea un obstáculo para la aplicación extendida de la terapia celular adoptiva. Por consiguiente, existe una necesidad de composiciones y métodos
20 inmunológicos mejorados para tratar el cáncer. Heidecker *et al.*, J. Immunol., 164: 6041-6045 (2000) y Panelli *et al.*, J. Immunol., 164: 4382-4392 (2000) se refieren a la caracterización de los antígenos que estimulan los CTL (linfocitos T citotóxicos). Los n.ºs de registro de EBI ADU98589 y AAS64170 dan a conocer secuencias que se solapan parcialmente con las SEQ ID NO 47 y 49.

Breve resumen de la invención

25 La invención proporciona las siguientes realizaciones definidas en los puntos 1-15:

1. Un receptor de células T (TCR) aislado o purificado que tiene especificidad antigénica por MAGE-A12 en el contexto de HLA-Cw7,

en el que el TCR comprende

(a) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 26-31, o

30 (b) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 36-41.

2. El TCR aislado o purificado según el punto 1, en el que el TCR comprende

(I) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 32-33, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 42-43; o

35 (II) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 34-35, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 44-45.

3. El TCR aislado o purificado según el punto 1 o 2, que tiene especificidad antigénica por un epítipo MAGE-A12 que comprende VRIGHLYIL (SEQ ID NO: 4).

4. Un polipéptido aislado o purificado que comprende una porción funcional del TCR según uno cualquiera de los puntos 1-3, en el que la porción funcional comprende:

40 (I) (a) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 26-31, o (b) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 36-41; o

(II) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 32-33, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 42-43; o

45 (III) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 34-35, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 44-45.

5. Una proteína aislada o purificada, que comprende al menos uno de los polipéptidos según el punto 4.

6. Una proteína aislada o purificada, que comprende
- (I) (a) una primera cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 26-28 y una segunda cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 29-31; o
- 5 (b) una primera cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 36-38 y una segunda cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 39-41,
- (II) (a) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33; o
- 10 (b) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; o
- (III) (a) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35; o
- (b) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45,
- 15 opcionalmente en la que la proteína es:
- (i) una proteína de fusión, y/o
- (ii) un anticuerpo recombinante.
7. Un ácido nucleico aislado o purificado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para el TCR según uno cualquiera de los puntos 1-3, el polipéptido según el punto 4 o la proteína según el punto 5 o 6,
- 20 opcionalmente en el que el ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 47 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 49.
8. Un ácido nucleico aislado o purificado que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos del ácido nucleico según el punto 7.
9. Un vector de expresión recombinante que comprende el ácido nucleico según el punto 7 u 8.
- 25 10. Una célula huésped aislada que comprende el vector de expresión recombinante según el punto 9, opcionalmente en la que la célula es:
- (a) un linfocito de sangre periférica (PBL), opcionalmente en la que el PBL es una célula T; o
- (b) un linfocito infiltrante de tumores (TIL).
11. Una población de células que comprende al menos una célula huésped según el punto 10.
- 30 12. Un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a una porción funcional del TCR según uno cualquiera de los puntos 1-3, en el que la porción funcional comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 26-31 o las SEQ ID NO: 36-41.
- 35 13. Una composición farmacéutica que comprende el TCR según uno cualquiera de los puntos 1-3, el polipéptido según el punto 4, la proteína según el punto 5 o el punto 6, el ácido nucleico según el punto 7 u 8, el vector de expresión recombinante según el punto 9, la célula huésped según el punto 10, la población de células según el punto 11, o el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo según el punto 12, y un portador farmacéuticamente aceptable.
14. Un método de detección de la presencia de cáncer en un huésped, que comprende:
- 40 (i) poner en contacto una muestra que comprende células del cáncer con el TCR según uno cualquiera de los puntos 1-3, el polipéptido según el punto 4, la proteína según el punto 5 o 6, el ácido nucleico según el punto 7 u 8, el vector de expresión recombinante según el punto 9, la célula huésped según el punto 10, la población de células según el punto 11, o el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo según el punto 12, formando de este modo un complejo, y
- (ii) detectar el complejo,
- 45 en el que la detección del complejo es indicativa de la presencia de cáncer en el huésped,
- opcionalmente en el que:

(a) el cáncer es melanoma, cáncer de mama, leucemia, cáncer de tiroides, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, mieloma múltiple, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cánceres de cabeza, cánceres de cuello, cáncer de próstata o cáncer urotelial; y/o

(b) la célula huésped y las células de la población son autólogas con respecto al huésped.

5 15. El TCR según uno cualquiera de los puntos 1-3, el polipéptido según el punto 4, la proteína según el punto 5 o 6, el ácido nucleico según el punto 7 u 8, el vector de expresión recombinante según el punto 9, la célula huésped según el punto 10, la población de células según el punto 11, el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo según el punto 12, o la composición farmacéutica según el punto 13, para su uso en el tratamiento o la prevención del cáncer en un huésped,

10 opcionalmente en el que:

(a) el cáncer es melanoma, cáncer de mama, leucemia, cáncer de tiroides, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, mieloma múltiple, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cánceres de cabeza, cánceres de cuello, cáncer de próstata o cáncer urotelial; y/o

(b) la célula huésped y las células de la población son autólogas con respecto al huésped.

15 La divulgación proporciona un receptor de células T aislado o purificado (T Cell Receptor, TCR) que tiene especificidad antigénica por a) (MAGE A)-3 de la familia A de antígenos de melanoma en el contexto de HLA-A1 o b) MAGE-A12 en el contexto de HLA-Cw7. Se dan a conocer además en el presente documento polipéptidos y proteínas relacionados, así como ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped y poblaciones de células relacionados. Se dan a conocer además en el presente documento anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos, y composiciones farmacéuticas relacionadas con los TCR dados a conocer en el presente documento.

25 Se dan a conocer en el presente documento métodos de detección de la presencia de cáncer en un huésped y métodos de tratamiento o prevención de cáncer en un huésped. El método de detección de la presencia de cáncer en un huésped comprende (i) poner en contacto una muestra que comprende células del cáncer con cualquiera de los TCR, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped, poblaciones de células huésped, o anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos de la invención, descritos en el presente documento, formando de este modo un complejo, y (ii) detectar el complejo, en el que la detección del complejo es indicativa de la presencia de cáncer en el huésped.

30 El método de tratamiento o prevención del cáncer en un huésped dado a conocer en el presente documento comprende administrar al huésped cualquiera de los TCR, polipéptidos o proteínas descritos en el presente documento, cualquier ácido nucleico o vector de expresión recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para cualquiera de los TCR, polipéptidos, proteínas descritos en el presente documento, o cualquier célula huésped o población de células huésped que comprende un vector recombinante que codifica para cualquiera de los TCR, polipéptidos o proteínas descritos en el presente documento, en una cantidad eficaz para tratar o prevenir el cáncer en el huésped.

Breve descripción de las varias vistas del/de los dibujo(s)

40 La figura 1A es un gráfico de barras que muestra la secreción de interferón (IFN)- γ (pg/ml) de células no transducidas (untransduced, UT) (barras negras) o células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) (barras no sombreadas) o TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 48) (barras grises) en respuesta a co-cultivo con diversas líneas de células tumorales.

45 La figura 1B es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células UT o células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) o TCR DMF5 anti-MART-1 en respuesta a co-cultivo con tumores frescos HLA-A1+/MAGE-A3+, FrTu 2767 (barras negras), FrTu 3178 (barras grises), FrTu 2823 (barras no sombreadas) o FrTu 3068 (barras con líneas en diagonal) o tumores frescos HLA-A*0201+/MART-1+, FrTu 2851 (barras con líneas en horizontal) o FrTu 3242 (barra con líneas en vertical). Las barras a cuadros indican células co-cultivadas sin ninguna célula tumoral.

50 Las figuras 2A y 2B son gráficos de barras que muestran la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células de los donantes primero (figura 2A) y segundo (figura 2B) transducidas con un constructo de control que codifica para el receptor de factor de crecimiento nervioso (Nerve Growth Factor Receptor, NGFR) de baja afinidad humano truncado (barras negras), TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras no sombreadas), o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras grises) en respuesta a co-cultivo con diversas líneas de células tumorales.

La figura 3A es un gráfico de barras que ilustra el porcentaje acumulativo de la población de raza blanca normal que expresa HLA-A1 (porción de barra no sombreada), HLA-A2 (porción de barra gris) y/o HLA-Cw7 (porción de barra negra).

Las figuras 3B y 3C son gráficos de barras que ilustran el porcentaje acumulativo de las poblaciones de pacientes de melanoma (figura 3B) y sarcoma de células sinoviales (figura 3C) humanos que se esperaba que expresasen HLA-A2 y NY-ESO-1 (porción de barra con líneas en diagonal); HLA-A1 y MAGE-A3 (porción de barra no sombreada); HLA-A2, MAGE-A3 y MAGE-A12 (porción de barra gris); y/o HLA-Cw7 y MAGE-A12 (porción de barra negra).

La figura 4 es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células transducidas con NGFR (barras negras), TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras no sombreadas) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras grises) en respuesta a co-cultivo con células diana HLA-Cw*0701 y HLA-Cw*0702 pulsadas con péptidos MAGE-A12 (VRIGHLYIL; SEQ ID NO: 4), MAGE-A2 (VPISHLYIL; SEQ ID NO: 50), MAGE-A3 (DPIGHLYIF; SEQ ID NO: 51), MAGE-A6 (DPIGHVYIF; SEQ ID NO: 52) o péptido de control (EDGCPAAEK; SEQ ID NO: 53).

Las figuras 5A-5D son gráficos de líneas que muestran el porcentaje de lisis de células 397 mel (A), 624 mel (B), 2984 mel (C) y 2661 RCC (D) por PBMc no transducidas (círculos negros) o transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (\blacktriangledown), TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (rombos), TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) (cuadrados), TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 48) (\blacktriangle) o TCR 112-120 anti-MAGE-A3 (círculos blancos) en las razones indicadas de efector con respecto a diana (E:T). Se presentan los resultados representativos de uno de dos experimentos independientes.

La figura 6A es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) (barras sombreadas) o TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 48) (barras a cuadros) en respuesta a co-cultivo con diversas líneas de células tumorales. Se presentan los resultados representativos de dos de tres experimentos independientes que valoran las respuestas de células T transducidas con estos TCR.

La figura 6B es un gráfico de barras que muestra copias relativas estimadas de ADN de vector medidas para células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46), TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 48), TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49).

La figura 6C es un gráfico de líneas que muestra la cantidad de IFN-gamma secretado por células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) (círculos) o TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 48) (cuadrados) en respuesta a co-cultivo con células diana incubadas con diversas concentraciones de péptido MAGE-A3 168-176.

La figura 6D es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras sombreadas) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras a cuadros) en respuesta a co-cultivo con diversas líneas de células tumorales. Se presentan los resultados representativos de dos de tres experimentos independientes que valoran las respuestas de células T transducidas con estos TCR.

La figura 6E es un gráfico de líneas que muestra la cantidad de IFN-gamma secretado por células transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (círculos) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (cuadrados) en respuesta a co-cultivo con células diana incubadas con diversas concentraciones de péptido MAGE-A12:170-178.

La figura 6F es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células no transducidas (control) (barras a rayas) o transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras sombreadas) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras a cuadros) en respuesta a co-cultivo con diversas líneas de células tumorales. Se presentan los resultados representativos de dos de tres experimentos independientes que valoran las respuestas de células T transducidas con estos TCR.

La figura 7A es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) (barras sombreadas) o TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (barras a cuadros) en respuesta a co-cultivo con diversos tumores no cultivados frescos. Se presentan los resultados representativos de uno de tres experimentos independientes que valoran respuestas de células T transducidas con estos TCR.

La figura 7B es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras sombreadas) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras a cuadros) en respuesta a co-cultivo con diversos tumores no cultivados frescos. Se presentan los resultados representativos de uno de tres experimentos independientes que valoran respuestas de células T transducidas con estos TCR.

La figura 8A es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) (barras sombreadas) o TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (barras a cuadros) co-cultivadas con células diana transfectadas con HLA-A*01 más o bien MAGE-A3, A1, A2, A4, A6, A9, A10 o bien A12 durante la noche.

La figura 8B es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras sombreadas) o TCR

FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras a cuadros) co-cultivadas con células diana transfectadas con HLA-C*07:02 más o bien MAGE-A3, A1, A2, A4, A6, A9, A10 o bien A12 durante la noche.

La figura 8C es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN- γ (pg/ml) de células no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras sombreadas) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras a cuadros) co-cultivadas con células diana transfectadas con HLA-C*07:01 más o bien MAGE-A3, A1, A2, A4, A6, A9, A10 o bien A12 durante la noche.

Las figuras 9A y 9B son gráficos de barras que muestran la secreción de IFN-gamma de células CD8+ (la figura 9A) o CD4+ (la figura 9B) no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46) (barras sombreadas) o TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (barras a cuadros) co-cultivadas con diversas dianas tumorales. Se presentan los resultados representativos de uno de dos experimentos independientes.

La figura 9C es un gráfico de barras que muestra la secreción de IFN-gamma de células CD8+ no transducidas (control) (barras a rayas) o células transducidas con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47) (barras sombreadas) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49) (barras a cuadros) co-cultivadas con diversas dianas tumorales. Se presentan los resultados representativos de uno de dos experimentos independientes.

Descripción detallada de la invención

Se da a conocer en el presente documento un receptor de célula T (TCR) que tiene especificidad antigénica por a) (MAGE A)-3 (también conocido como MAGE-3) de la familia A de antígenos de melanoma en el contexto de HLA-A1 o b) MAGE-A12 (también conocido como MAGE-12) en el contexto de HLA-Cw7.

MAGE-A3 y MAGE-A12 son miembros de la familia MAGE-A de doce proteínas homólogas que también incluye MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A6, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10 y MAGE-A11. Las proteínas MAGE-A son antígenos testiculares/de cáncer (CTA) que se expresan sólo en células tumorales y células germinales que no expresan MHC de los testículos y la placenta. Las proteínas MAGE-A se expresan en una variedad de cánceres humanos incluyendo, pero no limitados a, melanoma, cáncer de mama, leucemia, cáncer de tiroides, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cáncer de pulmón (por ejemplo, carcinoma pulmonar no microcítico), cáncer de ovario, mieloma múltiple, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cánceres de cabeza (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cánceres de cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cáncer de próstata y cáncer urotelial.

Los TCR dados a conocer en el presente documento proporcionan muchas ventajas, incluyendo cuando se usan para transferencia celular adoptiva. Por ejemplo, seleccionado como diana a) MAGE-A3 que se presenta en el contexto de HLA-A1 o b) MAGE-A12 que se presenta en el contexto de HLA-Cw7, los TCR de la invención hacen posible tratar pacientes que no pueden ser tratados usando TCR que seleccionan como diana antígenos MAGE que se presentan en el contexto de otras moléculas de HLA, por ejemplo, HLA-A2. Debido a que HLA-A1 y HLA-Cw7 son alelos altamente prevalentes, los TCR de la invención ventajosamente expanden en gran medida la población de pacientes que pueden tratarse. Adicionalmente, sin querer restringirse a una teoría en particular, se cree que debido a que MAGE-A3 y/o MAGE-A12 se expresan por células de múltiples tipos de cáncer, los TCR de la invención proporcionan ventajosamente la capacidad de destruir células de múltiples tipos de cáncer y, por consiguiente, tratar o prevenir múltiples tipos de cáncer. Adicionalmente, sin querer restringirse a una teoría en particular, se cree que debido a que las proteínas MAGE-A son antígenos testiculares/de cáncer que se expresan sólo en células tumorales y células germinales que no expresan MHC de los testículos y la placenta, los TCR de la invención ventajosamente se dirigen a la destrucción de células cancerosas mientras que minimizan o eliminan la destrucción de células normales, no cancerosas, reduciendo de este modo, por ejemplo, minimizando o eliminando, la toxicidad.

La frase "especificidad antigénica" según se usa en el presente documento significa que el TCR puede unirse específicamente y reconocer inmunológicamente a MAGE-A3 o MAGE-A12 con avidez alta. Por ejemplo, puede considerarse que un TCR tiene "especificidad antigénica" por MAGE-A3 o MAGE-A12 si las células T que expresan el TCR secretan al menos aproximadamente 200 pg/ml o más (por ejemplo, 200 pg/ml o más, 300 pg/ml o más, 400 pg/ml o más, 500 pg/ml o más, 600 pg/ml o más, 700 pg/ml o más, 1000 pg/ml o más, 5000 pg/ml o más, 7000 pg/ml o más, 10000 pg/ml o más) de IFN- γ tras co-cultivo con células diana HLA-Cw7+ o células diana HLA-A1+ negativas para antígeno, respectivamente, pulsadas con una concentración baja de péptido MAGE-A3 o péptido MAGE-A12, respectivamente (por ejemplo, aproximadamente de 0,05 ng/ml a aproximadamente 5 ng/ml, 0,05 ng/ml, 0,1 ng/ml, 0,5 ng/ml, 1 ng/ml o 5 ng/ml). Alternativa o adicionalmente, puede considerarse que un TCR tiene "especificidad antigénica" por MAGE-A3 o MAGE-A12 si las células T que expresan el TCR secretan al menos el doble de IFN- γ que el nivel de fondo de los PBL no transducidos de IFN- γ tras co-cultivo con células diana HLA-A1+ o células diana HLA-Cw7+ negativas para antígeno, respectivamente, pulsadas con una concentración baja de péptido MAGE-A3 o péptido MAGE-A12, respectivamente. Los TCR de la invención pueden secretar también IFN- γ tras co-cultivo con células diana HLA-A1+ o células diana HLA-Cw7+ negativas para antígeno pulsadas con concentraciones más altas de péptido MAGE-3 o péptido MAGE-A12, respectivamente.

Se da a conocer en el presente documento un TCR con especificidad antigénica por cualquier proteína, polipéptido o péptido MAGE-A3. El TCR de la invención puede tener especificidad antigénica por una proteína MAGE-A3 que

comprende, que consiste en o que consiste esencialmente en SEQ ID NO: 1. En una realización preferida, el TCR tiene especificidad antigénica por un péptido MAGE-A3 168-176 que comprende, que consiste en o que consiste esencialmente en EVDPIGHLY (SEQ ID NO: 2).

Los TCR de la invención son capaces de reconocer MAGE-A3 de una manera dependiente del antígeno de leucocitos humanos (HLA)-A1. Según se usa en el presente documento, "manera dependiente de HLA-A1" significa que el TCR desencadena una respuesta inmunitaria tras la unión a un antígeno de cáncer MAGE-A3 dentro del contexto de una molécula de HLA-A1. Los TCR de la invención son capaces de reconocer MAGE-A3 que se presenta por una molécula de HLA-A1 y pueden unirse a la molécula de HLA-A1 además de a MAGE-A3. Las moléculas de HLA-A1 a modo de ejemplo, en el contexto de las cuales los TCR de la invención reconocen MAGE-A3, incluyen aquellas codificadas por los alelos HLAA*0101, HLA-A*0102 y/o HLA-A*0103.

Una realización proporciona un TCR con especificidad antigénica por cualquier proteína, polipéptido o péptido MAGE-A12. El TCR de la invención puede tener especificidad antigénica por una proteína MAGE-A12 que comprende, que consiste en o que consiste esencialmente en SEQ ID NO: 3. En una realización preferida, el TCR tiene especificidad antigénica por un péptido MAGE-A12 170-178 que comprende, que consiste en o que consiste esencialmente en VRIGHLYIL (SEQ ID NO: 4).

Los TCR de la invención son capaces de reconocer MAGE-A12 de una manera dependiente de HLA-Cw7. Según se usa en el presente documento, "manera dependiente de HLA-Cw7" significa que el TCR desencadena una respuesta inmunitaria tras la unión a un antígeno de cáncer MAGE-A12 dentro del contexto de una molécula de HLA-Cw7. Los TCR de la invención son capaces de reconocer MAGE-A12 que se presenta por una molécula de HLA-Cw7 y pueden unirse a la molécula de HLA-Cw7 además de a MAGE-A12. Las moléculas de HLA-Cw7 a modo de ejemplo, en el contexto de las cuales los TCR de la invención reconocen MAGE-A12, incluyen aquellas codificadas por los alelos HLA-Cw*0701 y/o HLA-Cw*0702.

Se da a conocer en el presente documento un TCR que comprende dos polipéptidos (es decir, cadenas polipeptídicas), tales como una cadena alfa (α) de un TCR, una cadena beta (β) de un TCR, una cadena gamma (γ) de un TCR, una cadena delta (δ) de un TCR, o una combinación de las mismas. Tales cadenas polipeptídicas de TCR se conocen en la técnica. Los polipéptidos de los TCR pueden comprender cualquier secuencia de aminoácidos, siempre y cuando el TCR tiene especificidad antigénica por a) MAGE-A3 en el contexto de HLA-A1 o b) MAGE-A12 en el contexto de HLA-Cw7.

En una realización, el TCR comprende dos cadenas polipeptídicas, cada una de las cuales comprende una región variable que comprende una región determinante de la complementariedad (CDR) 1, una CDR2 y una CDR3 de un TCR. En una realización, el TCR tiene especificidad antigénica por MAGE-A3 168-176 y comprende una primera cadena polipeptídica que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 16 (CDR1 de cadena α), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 17 (CDR2 de cadena α), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o 18 (CDR3 de cadena α), y una segunda cadena polipeptídica que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 o 19 (CDR1 de cadena β), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o 20 (CDR2 de cadena β), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o 21 (CDR3 de cadena β). En otra realización, el TCR tiene especificidad antigénica por MAGE-A12 170-178 y comprende una primera cadena polipeptídica que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 o 36 (CDR1 de cadena α), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 o 37 (CDR2 de cadena α), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28 o 38 (CDR3 de cadena α), y una segunda cadena polipeptídica que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29 o 39 (CDR1 de cadena β), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 o 40 (CDR2 de cadena β), y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 o 41 (CDR3 de cadena β). A este respecto, el TCR de la invención puede comprender una cualquiera o más de las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en una cualquiera o más de las SEQ ID NO: 5-7, 8-10, 16-18, 19-21, 26-28, 29-31, 36-38 y 39-41. Preferiblemente, el TCR comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 5-10, 16-21, 26-31 o 36-41. Más preferiblemente, el TCR comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 5-10 o 26-31.

Alternativa o adicionalmente, el TCR puede comprender una secuencia de aminoácidos de una región variable de un TCR que comprende las CDR expuestas anteriormente. A este respecto, el TCR con especificidad antigénica por MAGE-A3 168-176 puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 o 22 (la región variable de una cadena α) o 12 o 23 (la región variable de una cadena β), ambas SEQ ID NO: 11 y 12 o ambas SEQ ID NO: 22 y 23. En otra realización, el TCR tiene especificidad antigénica por MAGE-A12 170-178 y comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 o 42 (la región variable de una cadena α) o 33 o 43 (la región variable de una cadena β), ambas SEQ ID NO: 32 y 33, o ambas SEQ ID NO: 42 y 43. Preferiblemente, el TCR de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 11 y 12 o ambas SEQ ID NO: 32 y 33.

Alternativa o adicionalmente, el TCR puede comprender una cadena α de un TCR y una cadena β de un TCR. Cada una de la cadena α y la cadena β del TCR de la invención puede comprender independientemente cualquier

secuencia de aminoácidos. Preferiblemente, la cadena α comprende la región variable de una cadena α según se expone anteriormente. A este respecto, el TCR de la invención con especificidad antigénica por MAGE-A3 168-176 puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o 24 y el TCR con especificidad antigénica por MAGE-A12 170-178 puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34 o 44. Un TCR de este tipo puede emparejarse con cualquier cadena β de un TCR. Preferiblemente, la cadena β del TCR de la invención comprende la región variable de una cadena β según se expone anteriormente. A este respecto, el TCR de la invención con especificidad antigénica por MAGE-A3 168-176 puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o 25 y el TCR con especificidad antigénica por MAGE-A12 170-178 puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 o 45. El TCR de la invención, por tanto, puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, 14, 24, 25, 34, 35, 44 o 45, ambas SEQ ID NO: 13 y 14, ambas SEQ ID NO: 24 y 25, ambas SEQ ID NO: 34 y 35 o ambas SEQ ID NO: 44 y 45. Preferiblemente, el TCR de la invención comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 13 y 14 o ambas SEQ ID NO: 34 y 35.

También se proporciona un polipéptido que comprende una porción funcional de cualquiera de los TCR descritos en el presente documento. El término "polipéptido" según se usa en el presente documento incluye oligopéptidos y se refiere a una cadena sencilla de aminoácidos conectada por uno o más enlaces peptídicos.

Con respecto a los polipéptidos de la invención, la porción funcional puede ser cualquier porción que comprende aminoácidos contiguos del TCR del que forma parte, siempre y cuando que la porción funcional se una específicamente a MAGE-A3 o MAGE-A12. El término "porción funcional" cuando se usa en referencia a un TCR se refiere a cualquier parte o fragmento del TCR dado a conocer en el presente documento, parte o fragmento que retiene la actividad biológica del TCR del que forma parte (el TCR parental). Las porciones funcionales abarcan, por ejemplo, aquellas partes de un TCR que retienen la capacidad de unirse específicamente a MAGE-A3 (por ejemplo, en una manera dependiente de HLA-A1) o a MAGE-A12 (por ejemplo, en una manera dependiente de HLA-Cw7), o detectar, tratar o prevenir cáncer, en un grado similar, el mismo grado o un grado superior, que el TCR parental. En referencia al TCR parental, la porción funcional puede comprender, por ejemplo, aproximadamente el 10 %, el 25 %, el 30 %, el 50 %, el 68 %, el 80 %, el 90 %, el 95 % o más del TCR parental.

La porción funcional puede comprender aminoácidos adicionales en el extremo amino o carboxilo terminal de la porción, o en ambos extremos terminales, aminoácidos adicionales que no se encuentran en la secuencia de aminoácidos del TCR parental. De manera deseable, los aminoácidos adicionales no interfieren con la función biológica de la porción funcional, por ejemplo, uniéndose específicamente a MAGE-A3 o MAGE-A12; y/o teniendo la capacidad de detectar cáncer, tratar o prevenir cáncer, etc. De manera más deseable, los aminoácidos adicionales potencian la actividad biológica, comparada con la actividad biológica del TCR parental.

El polipéptido puede comprender una porción funcional de una o ambas de las cadenas α y β de los TCR dados a conocer en el presente documento, tal como una porción funcional que comprende una o más de CDR1, CDR2 y CDR3 de la(s) región/región variable(s) de la cadena α y/o cadena β de un TCR dado a conocer en el presente documento. A este respecto, el polipéptido puede comprender una porción funcional que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, 16, 26 o 36 (CDR1 de cadena α), 6, 17, 27 o 37 (CDR2 de cadena α), 7, 18, 28 o 38 (CDR3 de cadena α), 8, 19, 29 o 39 (CDR1 de cadena β), 9, 20, 30 o 40 (CDR2 de cadena β), 10, 21, 31 o 41 (CDR3 de cadena β), o una combinación de las mismas. Preferiblemente, el polipéptido de la invención comprende una porción funcional que comprende las SEQ ID NO: 5-7; 8-10; 16-18; 19-21; 26-28; 29-31; 36-38; 39-41; todas las SEQ ID NO: 5-10; todas las SEQ ID NO: 16-21; todas las SEQ ID NO: 26-31; o todas las SEQ ID NO: 36-41. Más preferiblemente, el polipéptido comprende una porción funcional que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 5-10 o todas las SEQ ID NO: 26-31.

Alternativa o adicionalmente, el polipéptido de la invención puede comprender, por ejemplo, la región variable del TCR de la invención que comprende una combinación de las regiones CDR anteriormente expuestas. A este respecto, el polipéptido puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, 22, 32 o 42 (la región variable de una cadena α), SEQ ID NO: 12, 23, 33 o 43 (la región variable de una cadena β), ambas SEQ ID NO: 11 y 12, ambas SEQ ID NO: 22 y 23, ambas SEQ ID NO: 32 y 33 o ambas SEQ ID NO: 42 y 43. Preferiblemente, el polipéptido comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 11 y 12 o ambas SEQ ID NO: 32 y 33.

Alternativa o adicionalmente, el polipéptido puede comprender la longitud completa de una cadena α o β de uno de los TCR descritos en el presente documento. A este respecto, el polipéptido de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 13, 14, 24, 25, 34, 35, 44 o 45. Alternativamente, el polipéptido puede comprender cadenas α y β de los TCR descritos en el presente documento. Por ejemplo, el polipéptido de la invención puede comprender las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 13 y 14; ambas SEQ ID NO: 24 y 25; ambas SEQ ID NO: 34 y 35; o ambas SEQ ID NO: 44 y 45. Preferiblemente, el polipéptido comprende las secuencias de aminoácidos de ambas SEQ ID NO: 13 y 14 o ambas SEQ ID NO: 34 y 35.

La divulgación proporciona además una proteína que comprende al menos uno de los polipéptidos descritos en el presente documento. "Proteína" significa una molécula que comprende una o más cadenas polipeptídicas.

En una realización, la proteína puede comprender una primera cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 5-7; SEQ ID NO: 16-18; SEQ ID NO: 26-28; o SEQ ID NO: 36-38 y una segunda

cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8-10; SEQ ID NO: 19-21; SEQ ID NO: 29-31; o SEQ ID NO: 39-41. Alternativa o adicionalmente, la proteína puede comprender una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, 22, 32 o 42 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, 23, 33 o 43. La proteína puede comprender, por ejemplo, una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, 24, 34 o 44 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, 25, 35 o 45. En este caso, la proteína puede ser un TCR. Alternativamente, si, por ejemplo, la proteína comprende una única cadena polipeptídica que comprende SEQ ID NO: 13, 24, 34 o 44 y SEQ ID NO: 14, 25, 35 o 45, o si la primera y/o segunda cadena(s) polipeptídica(s) de la proteína comprende(n) además otras secuencias de aminoácidos, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que codifica para una inmunoglobulina o una porción de la misma, entonces la proteína puede ser una proteína de fusión. A este respecto, la divulgación también proporciona una proteína de fusión que comprende al menos uno de los polipéptidos de la invención descritos en el presente documento junto con al menos un polipéptido distinto. El polipéptido distinto puede existir como un polipéptido independiente de la proteína de fusión, o puede existir como un polipéptido, que se expresa en marco (en tándem) con uno de los polipéptidos de la invención descritos en el presente documento. El polipéptido distinto puede codificar para cualquier molécula peptídica o proteínica o una porción de la misma, incluyendo, pero sin limitarse a, una inmunoglobulina, CD3, CD4, CD8, una molécula de MHC, a una molécula de CD1, por ejemplo, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, etc.

La proteína de fusión puede comprender una o más copias del polipéptido de la invención y/o una o más copias del polipéptido distinto. Por ejemplo, la proteína de fusión puede comprender 1, 2, 3, 4, 5 o más copias del polipéptido de la invención y/o del polipéptido distinto. Se conocen en la técnica métodos adecuados para producir proteínas de fusión e incluyen, por ejemplo, métodos recombinantes. Véase, por ejemplo, Choi *et al.*, Mol. Biotechnol. 31: 193-202 (2005).

En algunas realizaciones de la invención, los TCR, polipéptidos y proteínas de la invención pueden expresarse como una única proteína que comprende un péptido de unión que une la cadena α y la cadena β . A este respecto, los TCR, polipéptidos y proteínas que comprenden SEQ ID NO: 13, 24, 34 o 44 y SEQ ID NO: 14, 25, 35 o 45 pueden comprender además un péptido ligador que comprende SEQ ID NO: 15 o 54. El péptido ligador puede ventajosamente facilitar la expresión de un TCR, polipéptido y/o proteína recombinante en una célula huésped. Tras la expresión del constructo que incluye el péptido ligador por una célula huésped, el péptido ligador puede escindirse, dando como resultado cadenas α y β separadas.

La proteína dada a conocer en el presente documento puede ser un anticuerpo recombinante que comprende al menos uno de los polipéptidos de la invención descritos en el presente documento. Según se usa en el presente documento, "anticuerpo recombinante" se refiere a una proteína recombinante (por ejemplo, modificada mediante ingeniería genética) que comprende al menos uno de los polipéptidos de la invención y una cadena polipeptídica de un anticuerpo o una porción del mismo. El polipéptido de un anticuerpo o una porción del mismo puede ser una cadena pesada, una cadena ligera, una región variable o constante de una cadena pesada o ligera, un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), o un fragmento de un anticuerpo Fc, Fab, o F(ab)₂, etc. La cadena polipeptídica de un anticuerpo o una porción del mismo puede existir como un polipéptido separado del anticuerpo recombinante. Alternativamente, la cadena polipeptídica de un anticuerpo o una porción del mismo puede existir como un polipéptido independientes que se expresa en marco (en tándem) con el polipéptido. El polipéptido de un anticuerpo o una porción del mismo puede ser un polipéptido de cualquier anticuerpo o cualquier fragmento de anticuerpo, incluyendo cualquiera de los anticuerpos y fragmentos de anticuerpo descritos en el presente documento.

Se dan a conocer además en el presente documento variantes funcionales de los TCR, polipéptidos y proteínas de la invención. El término "variante funcional" según se usa en el presente documento se refiere a un TCR, polipéptido o proteína que tiene identidad o similitud de secuencia sustancial o significativa con un TCR, polipéptido o proteína parental, variante funcional que retiene la actividad biológica del TCR, polipéptido o proteína del cual es una variante. Las variantes funcionales abarcan, por ejemplo, aquellas variantes del TCR, polipéptido o proteína descrito en el presente documento (el TCR, polipéptido o proteína parental) que retienen la capacidad de unirse específicamente a MAGE-A3 o a MAGE-A12 para el cual el TCR parental tiene especificidad antigénica o al cual se une específicamente el polipéptido o proteína parental, en un grado similar, el mismo grado, o en un grado superior, que el TCR, polipéptido o proteína parental. En referencia al TCR, polipéptido o proteína parental, la variante funcional puede, por ejemplo, tener una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos aproximadamente el 30 %, el 50 %, el 75 %, el 80 %, el 90 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o más con respecto al TCR, polipéptido o proteína parental.

La variante funcional puede, por ejemplo, comprender la secuencia de aminoácidos del TCR, polipéptido o proteína parental con al menos una sustitución de aminoácido conservadora. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras se conocen en la técnica, e incluyen sustituciones de aminoácidos en las que un aminoácido que tiene ciertas propiedades físicas y/o químicas se intercambia por otro aminoácido que tiene las mismas propiedades químicas o físicas. Por ejemplo, la sustitución de aminoácido conservadora puede ser la sustitución de un aminoácido ácido por otro aminoácido ácido (por ejemplo, Asp o Glu), la sustitución de un aminoácido con una cadena lateral apolar por otro aminoácido con una cadena lateral apolar (por ejemplo, Ala, Gly, Val, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val, etc.), la sustitución de un aminoácido básico por otro aminoácido básico (Lys, Arg, etc.), la

sustitución de un aminoácido con una cadena lateral polar por otro aminoácido con una cadena lateral polar (Asn, Cys, Gln, Ser, Thr, Tyr, etc.), etc.

Alternativa o adicionalmente, las variantes funcionales pueden comprender la secuencia de aminoácidos del TCR, polipéptido o proteína parental con al menos una sustitución de aminoácidos no conservadora. En este caso, es preferible que la sustitución de aminoácidos no conservadora no interfiera con o inhiba la actividad biológica de la variante funcional. Preferiblemente, la sustitución de aminoácidos no conservadora potencia la actividad biológica de la variante funcional, de tal manera que la actividad biológica de la variante funcional se aumenta en comparación con el TCR, polipéptido o proteína parental.

El TCR, polipéptido o proteína puede consistir esencialmente en la secuencia o secuencias de aminoácidos especificadas descritas en el presente documento, de tal manera que otros componentes de la variante funcional, por ejemplo, otros aminoácidos, no cambian materialmente la actividad biológica de la variante funcional. A este respecto, el TCR, polipéptido o proteína de la invención puede, por ejemplo, consistir esencialmente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, 14, 24, 25, 34, 35, 44 o 45, ambas SEQ ID NO: 13 y 14, ambas SEQ ID NO: 24 y 25, ambas SEQ ID NO: 34 y 35 o ambas SEQ ID NO: 44 y 45. Además, por ejemplo, los TCR, polipéptidos o proteínas de la invención pueden consistir esencialmente en la(s) secuencia(s) de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, 12, 22, 23, 32, 33, 42 o 43, ambas SEQ ID NO: 11 y 12, ambas SEQ ID NO: 22 y 23, ambas SEQ ID NO: 32 y 33 o ambas SEQ ID NO: 42 y 43. Además, los TCR, polipéptidos o proteínas de la invención pueden consistir esencialmente en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, 16, 26 o 36 (CDR1 de cadena α), SEQ ID NO: 6, 17, 27 o 37 (CDR2 de cadena α), SEQ ID NO: 7, 18, 28 o 38 (CDR3 de cadena α), SEQ ID NO: 8, 19, 29 o 39 (CDR1 de cadena β), SEQ ID NO: 9, 20, 30 o 40 (CDR2 de cadena β), SEQ ID NO: 10, 21, 31 o 41 (CDR3 de cadena β), o cualquier combinación de las mismas, por ejemplo, las SEQ ID NO: 5-7; 8-10; 5-10; 16-18; 19-21; 16-21; 26-28; 29-31; 26-31; 36-38; 39-41; o 36-41.

Los TCR, polipéptidos y proteínas de la invención (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales) pueden ser de cualquier longitud, es decir, pueden comprender cualquier cantidad de aminoácidos, dado que los TCR, polipéptidos o proteínas (o porciones funcionales o variantes funcionales de los mismos) retienen su actividad biológica, por ejemplo, la capacidad de unirse específicamente a MAGE-A3 o MAGE-A12; detectar cáncer en un huésped; o tratar o prevenir cáncer en un huésped, etc. Por ejemplo, el polipéptido puede estar en el intervalo de desde aproximadamente 50 hasta aproximadamente 5000 aminoácidos de largo, tal como 50, 70, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 o más aminoácidos de longitud. A este respecto, los polipéptidos dados a conocer en el presente documento también incluyen oligopéptidos.

Los TCR, polipéptidos y proteínas dados a conocer en el presente documento (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales) pueden comprender aminoácidos sintéticos en lugar de uno o más aminoácidos que se producen de manera natural. Tales aminoácidos sintéticos se conocen en la técnica, e incluyen, por ejemplo, ácido aminociclohexanocarboxílico, norleucina, ácido α -amino-n-decanoico, homoserina, S-acetilaminometil-cisteína, trans-3- y trans-4-hidroxiprolina, 4-aminofenilalanina, 4-nitrofenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-carboxifenilalanina, β -fenilserina β -hidroxifenilalanina, fenilglicina, α -naftilalanina, ciclohexilalanina, ciclohexilglicina, ácido indolin-2-carboxílico, ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico, ácido aminomalónico, monoamida de ácido aminomalónico, N'-bencil-N'-metil-lisina, N',N'-dibencil-lisina, 6-hidroxilisina, ornitina, ácido α -aminociclopentanocarboxílico, ácido α -aminociclohexanocarboxílico, ácido α -aminocicloheptanocarboxílico, ácido α -(2-amino-2-norbornano)-carboxílico, ácido α,γ -diaminobutírico, ácido α,β -diaminopropiónico, homofenilalanina y α -terc-butilglicina.

Los TCR, polipéptidos y proteínas dados a conocer en el presente documento (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales) pueden glicosilarse, amidarse, carboxilarse, fosforilarse, esterificarse, N-acilarse, ciclarse mediante, por ejemplo, un puente disulfuro, o convertirse en una sal de adición de ácido y/u opcionalmente dimerizarse o polimerizarse, o conjugarse.

Cuando los TCR, polipéptidos y proteínas dados a conocer en el presente documento (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales) están en forma de una sal, preferiblemente, los polipéptidos están en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen las derivadas de ácidos minerales, tales como ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico, y sulfúrico, y ácidos orgánicos, tales como ácidos tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico y arilsulfónico, por ejemplo, ácido p-toluenosulfónico.

El TCR, polipéptido y/o proteína dado a conocer en el presente documento (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos) puede obtenerse mediante métodos conocidos en la técnica. Se describen métodos adecuados de síntesis *de novo* de polipéptidos y proteínas en las referencias, tales como Chan *et al.*, Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis, Oxford University Press, Oxford, Reino Unido, 2005; Peptide and Protein Drug Analysis, ed. Reid, R., Marcel Dekker, Inc., 2000; Epitope Mapping, ed. Westwood *et al.*, Oxford University Press, Oxford, Reino Unido, 2000; y patente estadounidense n.º 5.449.752. Además, pueden producirse polipéptidos y proteínas de manera recombinante usando los ácidos nucleicos descritos en el presente documento usando métodos recombinantes convencionales. Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory

Manual, 3ª ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY 2001; y Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates y John Wiley & Sons, NY, 1994. Adicionalmente, algunos de los TCR, polipéptidos y proteínas dados a conocer en el presente documento (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos) pueden aislarse y/o purificarse a partir de una fuente, tal como una planta, una bacteria, un insecto, un mamífero, por ejemplo, una rata, un ser humano, etc. Se conocen bien en la técnica métodos de aislamiento y purificación. Alternativamente, los TCR, polipéptidos y/o proteínas descritos en el presente documento (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos) pueden sintetizarse comercialmente por compañías, tales como Synpep (Dublín, CA), Peptide Technologies Corp. (Gaithersburg, MD) y Multiple Peptide Systems (San Diego, CA). A este respecto, los TCR, polipéptidos y proteínas de la invención pueden ser sintéticos, recombinantes, aislados y/o purificados.

Se dan a conocer además en el presente documento conjugados, por ejemplo, bioconjugados, que comprenden cualquiera de los TCR, polipéptidos o proteínas de la invención (incluyendo cualquiera de las porciones o variantes funcionales de los mismos), ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped, poblaciones de células huésped, o anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos. Se conocen en la técnica conjugados, así como métodos de síntesis de conjugados en general (véase, por ejemplo, Hudecz, F., Methods Mol. Biol. 298: 209-223 (2005) y Kirin *et al.*, Inorg Chem. 44(15): 5405-5415 (2005)).

Según se usa en el presente documento, "ácido nucleico" incluye "polinucleótido", "oligonucleótido" y "molécula de ácido nucleico", y generalmente significa un polímero de ADN o ARN, que puede ser monocatenario o bicatenario, sintetizado u obtenido (por ejemplo, aislado y/o purificado) a partir de fuentes naturales, que puede contener nucleótidos naturales, no naturales o alterados, y que puede contener un enlace internucleotídico natural, no natural o alterado, tal como un enlace fosforamidoato o un enlace fosforotioato, en lugar del fosfodiéster que se encuentra entre los nucleótidos de un oligonucleótido no modificado. Se prefiere generalmente que el ácido nucleico no comprenda ninguna inserción, delección, inversión y/o sustitución. Sin embargo, puede ser adecuado en algunos casos, tal como se comenta en el presente documento, que el ácido nucleico comprenda una o más inserciones, delecciones, inversiones y/o sustituciones.

Preferiblemente, los ácidos nucleicos dados a conocer en el presente documento son recombinantes. Según se usa en el presente documento, el término "recombinante" se refiere a (i) moléculas que se construyen fuera de las células vivas uniendo segmentos de ácido nucleico naturales o sintéticos a moléculas de ácido nucleico que pueden replicarse en una célula viva, o (ii) moléculas que resultan de la replicación de aquellas descritas en (i) anteriormente. Para los propósitos en el presente documento, la replicación puede ser replicación *in vitro* o replicación *in vivo*.

Los ácidos nucleicos pueden construirse basándose en reacciones de síntesis química y/o ligamiento enzimático usando procedimientos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, citado anteriormente, y Ausubel *et al.*, citado anteriormente. Por ejemplo, un ácido nucleico puede sintetizarse químicamente usando nucleótidos que se producen de manera natural o nucleótidos modificados de manera diversa diseñados para aumentar la estabilidad biológica de las moléculas o para aumentar la estabilidad física del dúplex formado tras la hibridación (por ejemplo, derivados de fosforotioato y nucleótidos sustituidos con acridina). Los ejemplos de nucleótidos modificados que pueden usarse para generar los ácidos nucleicos incluyen, pero no se limitan a, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-clorouracilo, 5-yodouracilo, hipoxantina, xantina, 4-acetilcitosina, 5(carboxihidroximetil)uracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-carboximetilaminometiluracilo, dihidrouracilo, beta-D-galactosilqueosina, inosina, N⁶-isopenteniladenina, 1-metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, adenina N⁶-sustituida, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, beta-D-manosilqueosina, 5'-metoxycarboximetiluracilo, 5-metoxiuracilo, 2-metil-N⁶-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético (v), wibutoxosina, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, 3-(3-amino-3-N-2-carboxipropil)uracilo y 2,6-diaminopurina. Alternativamente, pueden adquirirse uno o más de los ácidos nucleicos de compañías tales como Macromolecular Resources (Fort Collins, CO) y Synthegen (Houston, TX).

El ácido nucleico puede comprender cualquier secuencia de nucleótidos que codifica para cualquiera de los TCR, polipéptidos o proteínas, o porciones funcionales o variantes funcionales de los mismos descritos en el presente documento. Por ejemplo, el ácido nucleico puede comprender, consistir o consistir esencialmente en una cualquiera o más de las secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 46-49.

Se da a conocer en el presente documento un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento o una secuencia de nucleótidos que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento.

La secuencia de nucleótidos que se hibrida en condiciones rigurosas preferiblemente se hibrida en condiciones de alta rigurosidad. "Condiciones de alta rigurosidad" significa que la secuencia de nucleótidos se hibrida específicamente con una secuencia diana (la secuencia de nucleótidos de cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento) en una cantidad que es mayor de manera detectable que la hibridación

inespecífica. Condiciones de alta rigurosidad incluyen condiciones que distinguirían a un polinucleótido con una secuencia complementaria exacta, o uno que contiene sólo unos pocos apareamientos erróneos dispersos de una secuencia aleatoria que tiene unas pocas regiones pequeñas (por ejemplo, 3-10 bases) que se aparean con la secuencia de nucleótidos. Tales regiones pequeñas de complementariedad se fusionan más fácilmente que un complemento de longitud completa de 14-17 o más bases, y la hibridación de alta rigurosidad las hace fácilmente distinguibles. Las condiciones de rigurosidad relativamente alta incluirían, por ejemplo, condiciones de baja sal y/o alta temperatura, tales como las proporcionadas por aproximadamente NaCl 0,02-0,1 M o el equivalente, a temperaturas de aproximadamente 50-70 °C. Tales condiciones de alta rigurosidad toleran poco, si es que lo toleran, apareamiento erróneo entre la secuencia de nucleótidos y el molde o cadena diana, y son particularmente adecuadas para detectar la expresión de cualquiera de los TCR de la invención. Se aprecia generalmente que las condiciones pueden hacerse más rigurosas mediante la adición de cantidades crecientes de formamida.

La divulgación también proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene una identidad de al menos aproximadamente el 70 % o más, por ejemplo, aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 91 %, aproximadamente el 92 %, aproximadamente el 93 %, aproximadamente el 94 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 96 %, aproximadamente el 97 %, aproximadamente el 98 % o aproximadamente el 99 % con respecto a cualquiera de los ácidos nucleicos descritos en el presente documento.

Los ácidos nucleicos pueden incorporarse dentro de un vector de expresión recombinante. A este respecto, la invención proporciona vectores de expresión recombinantes que comprenden cualquiera de los ácidos nucleicos. Para los propósitos en el presente documento, el término "vector de expresión recombinante" significa un constructo de oligonucleótido o polinucleótido modificado genéticamente que permite la expresión de un ARNm, proteína, polipéptido o péptido por una célula huésped, cuando el constructo comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para el ARNm, proteína, polipéptido o péptido, y el vector se pone en contacto con la célula en condiciones suficientes para hacer que el ARNm, proteína, polipéptido o péptido se exprese dentro de la célula. Los vectores dados a conocer en el presente documento no se producen de manera natural como un todo. Sin embargo, partes de los vectores pueden producirse de manera natural. Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden comprender cualquier tipo de nucleótidos, incluyendo, pero no limitados a, ADN y ARN, que pueden ser de monocatenarios o bicatenarios, sintetizados u obtenidos en parte a partir de fuentes naturales, y que pueden contener nucleótidos naturales, no naturales o alterados. Los vectores de expresión recombinantes pueden comprender enlaces internucleotídicos que se producen de manera natural, que no se producen de manera natural, o ambos tipos de enlaces. Preferiblemente, los nucleótidos o enlaces internucleotídicos que no se producen de manera natural o alterados no dificultan la transcripción o replicación del vector.

El vector de expresión recombinante puede ser cualquier vector de expresión recombinante adecuado, y puede usarse para transformar o transfectar cualquier huésped adecuado. Los vectores adecuados incluyen aquellos diseñados para la propagación y expansión o para la expresión o ambas, tales como plásmidos y virus. El vector puede seleccionarse del grupo que consiste en la serie pUC (Fermentas Life Sciences), la serie pBluescript (Stratagene, LaJolla, CA), la serie pET (Novagen, Madison, WI), la serie pGEX (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suecia) y la serie pEX (Clontech, Palo Alto, CA). Pueden usarse también los vectores de bacteriófagos, tales como λ GT10, λ GT11, λ ZapII (Stratagene), λ EMBL4 y λ NM1149. Los ejemplos de vectores de expresión vegetales incluyen pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 y pBIN19 (Clontech). Los ejemplos de vectores de expresión animales incluyen pEUK-CI, pMAM y pMAMneo (Clontech). Preferiblemente, el vector de expresión recombinante es un vector viral, por ejemplo, un vector retroviral.

Los vectores de expresión recombinantes pueden prepararse usando técnicas de ADN recombinante convencionales descritas, por ejemplo, en Sambrook *et al.*, citado anteriormente, y Ausubel *et al.*, citado anteriormente. Pueden prepararse constructos de vectores de expresión, que son circulares o lineales, para que contengan un sistema de replicación funcional en una célula huésped procariota o eucariota. Los sistemas de replicación pueden derivarse, por ejemplo, de ColE1, plásmido 2 μ , λ , SV40, virus de papiloma bovino y similares.

De manera deseable, el vector de expresión recombinante comprende secuencias reguladoras, tales como codones de iniciación y terminación de transcripción y traducción, que son específicos para el tipo de huésped (por ejemplo, bacteria, hongo, planta o animal) en el que va a introducirse el vector, según sea apropiado, y tomando en consideración si el vector está basado en ADN o en ARN.

El vector de expresión recombinante puede incluir uno o más genes marcadores que permiten la selección de huéspedes transformados o transfectados. Los genes marcadores incluyen resistencia a biocida, por ejemplo, resistencia a antibióticos, metales pesados, etc., complementación en un huésped auxotrófo para proporcionar prototrofia, y similares. Los genes marcadores adecuados para los vectores de expresión de la invención incluyen, por ejemplo, genes de resistencia a neomicina/G418, genes de resistencia a higromicina, genes de resistencia a histidinol, genes de resistencia a tetraciclina y genes de resistencia a ampicilina.

El vector de expresión recombinante puede comprender un promotor nativo o no nativo unido operativamente a la secuencia de nucleótidos que codifica para el TCR, polipéptido o proteína (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales del mismo), o a la secuencia de nucleótidos que es complementaria a o que se hibrida con la secuencia de nucleótidos que codifica para el TCR, polipéptido o proteína. La selección de promotores, por ejemplo,

fuertes, débiles, inducibles, específicos de tejidos y específicos de desarrollo, se encuentra dentro del conocimiento habitual del experto. De forma similar, la combinación de una secuencia de nucleótidos con un promotor también se encuentra dentro del conocimiento del experto. El promotor puede ser un promotor no viral o un promotor viral, por ejemplo, un promotor de citomegalovirus (CMV), un promotor de SV40, un promotor de RSV y un promotor que se encuentra en la repetición terminal larga del virus de células madre murinas.

Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden diseñarse o bien para expresión transitoria, para expresión estable, o bien para ambas. Además, los vectores de expresión recombinantes pueden producirse para expresión constitutiva o para expresión inducible. Además, los vectores de expresión recombinantes pueden producirse para incluir un gen suicida.

Según se usa en el presente documento, el término “gen suicida” se refiere a un gen que provoca que la célula que expresa el gen suicida muera. El gen suicida puede ser un gen que confiere sensibilidad a un agente, por ejemplo, un fármaco, sobre la célula en la que se expresa el gen, y provoca que la célula muera cuando la célula se pone en contacto con o se expone al agente. Se conocen en la técnica genes suicidas (véase, por ejemplo, *Suicide Gene Therapy: Methods and Reviews*, Springer, Caroline J. (Cancer Research UK Centre for Cancer Therapeutics at the Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, Reino Unido), Humana Press, 2004) e incluyen, por ejemplo, el gen de la timidina cinasa (TK) del virus del herpes simple (VHS), citosina desaminasa, purina nucleósido fosforilasa y nitrorreductasa.

Otra realización de la invención proporciona además una célula huésped que comprende cualquiera de los vectores de expresión recombinantes descritos en el presente documento. Según se usa en el presente documento, el término “célula huésped” se refiere a cualquier tipo de célula que puede contener el vector de expresión recombinante de la invención. La célula huésped puede ser una célula eucariota, por ejemplo, de plantas, animales, hongos o algas, o puede ser una célula procariota, por ejemplo, de bacterias o protozoos. La célula huésped puede ser una célula cultivada o una célula primaria, es decir, aislada directamente de un organismo, por ejemplo, un ser humano. La célula huésped puede ser una célula adherente o una célula suspendida, es decir, una célula que crece en suspensión. Se conocen en la técnica células huésped adecuadas e incluyen, por ejemplo, células de *E. coli* DH5 α , células de ovario de hámster chino, células VERO de mono, células COS, células HEK293, y similares. Para los propósitos de amplificar o replicar el vector de expresión recombinante, la célula huésped es preferiblemente una célula procariota, por ejemplo, una célula DH5 α . Para los propósitos de producir un TCR, polipéptido o proteína recombinante, la célula huésped es preferiblemente una célula de mamífero. Lo más preferiblemente, la célula huésped es una célula humana. Aunque la célula huésped puede ser de cualquier tipo celular, puede originarse de cualquier tipo de tejido y puede ser de cualquier fase de desarrollo, la célula huésped preferiblemente es un linfocito de sangre periférica (Peripheral Blood Lymphocyte, PBL) o una célula mononuclear de sangre periférica (Peripheral Blood Mononuclear Cell, PBMC). Más preferiblemente, la célula huésped es una célula T.

Para los propósitos en el presente documento, la célula T puede ser cualquier célula T, tal como una célula T cultivada, por ejemplo, una célula T primaria, o una célula T de una línea de células T cultivadas, por ejemplo, Jurkat, SupT1, etc., o una célula T obtenida de un mamífero. Si se obtiene de un mamífero, la célula T puede obtenerse de numerosas fuentes, incluyendo pero sin limitarse a sangre, médula ósea, ganglio linfático, el timo, u otros tejidos o líquidos. Las células T también pueden enriquecerse o purificarse. Preferiblemente, la célula T es una célula T humana. Más preferiblemente, la célula T es una célula T aislada de un ser humano. La célula T puede ser cualquier tipo de célula T y puede ser de cualquier fase del desarrollo, incluyendo pero sin limitarse a, células T dobles positivas CD4⁺/CD8⁺, células T auxiliares CD4⁺, por ejemplo, células Th₁ y Th₂, células T CD8⁺ (por ejemplo, células T citotóxicas), linfocitos infiltrantes de tumores (Tumor Infiltrating Lymphocytes, TIL), células T de memoria (por ejemplo, células T de memoria centrales y células T de memoria efectoras), células T indiferenciadas, y similares. Preferiblemente, la célula T es una célula T CD8⁺ o una célula T CD4⁺.

También se proporciona en el presente documento una población de células que comprende al menos una célula huésped descrita en el presente documento. La población de células puede ser una población heterogénea que comprende la célula huésped que comprende cualquiera de los vectores de expresión recombinantes descritos, además de al menos una célula distinta, por ejemplo, una célula huésped (por ejemplo, una célula T), que no comprende ninguno de los vectores de expresión recombinantes, o una célula distinta de una célula T, por ejemplo, una célula B, un macrófago, un neutrófilo, un eritrocito, un hepatocito, una célula endotelial, una célula epitelial, una célula muscular, una célula cerebral, etc. Alternativamente, la población de células puede ser una población sustancialmente homogénea, en la que la población comprende principalmente células huésped (por ejemplo, que consiste esencialmente en) que comprenden el vector de expresión recombinante. La población también puede ser una población clonal de células, en la que todas las células de la población son clones de una única célula huésped que comprende un vector de expresión recombinante, de tal manera que todas las células de la población comprenden el vector de expresión recombinante. En una realización de la invención, la población de células es una población clonal que comprende células huésped que comprenden un vector de expresión recombinante según se describe en el presente documento.

La divulgación proporciona además un anticuerpo, o porción de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a una porción funcional de cualquiera de los TCR descritos en el presente documento. Preferiblemente, la porción funcional se une específicamente al antígeno de cáncer, por ejemplo, la porción funcional

que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 5, 16, 26 o 36 (CDR1 de cadena α), 6, 17, 27 o 37 (CDR2 de cadena α), 7, 18, 28 o 38 (CDR3 de cadena α), 8, 19, 29 o 39 (CDR1 de cadena β), 9, 20, 30 o 40 (CDR2 de cadena β), 10, 21, 31 o 41 (CDR3 de cadena β), SEQ ID NO: 11, 22, 32 o 42 (región variable de cadena α), SEQ ID NO: 12, 23, 33 o 43 (región variable de cadena β) o una combinación de las mismas, por ejemplo, 5-7; 8-10; 5-10; 16-18, 19-21; 16-21; 26-28; 29-31; 26-31; 36-38; 39-41; o 36-41. Más preferiblemente, la porción funcional comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 5-10 o las SEQ ID NO: 26-31. En una realización preferida, el anticuerpo, o porción de unión a antígeno del mismo, se une a un epítipo que se forma por todas de las 6 CDR (CDR1-3 de la cadena alfa y CDR1-3 de la cadena beta). El anticuerpo puede ser cualquier tipo de inmunoglobulina que se conoce en la técnica. Por ejemplo, el anticuerpo puede ser de cualquier isotipo, por ejemplo, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM, etc. El anticuerpo puede ser monoclonal o policlonal. El anticuerpo puede ser un anticuerpo que se produce de manera natural, por ejemplo, un anticuerpo aislado y/o purificado de un mamífero, por ejemplo, ratón, conejo, cabra, caballo, pollo, hámster, ser humano, etc. Alternativamente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo modificado por ingeniería genética, por ejemplo, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo quimérico. El anticuerpo puede estar en forma monomérica o polimérica. Además, el anticuerpo puede tener cualquier nivel de avidez o afinidad por la porción funcional del TCR de la invención. De manera deseable, el anticuerpo es específico para la porción funcional del TCR de la invención, de tal manera que hay una reacción cruzada mínima con otros péptidos o proteínas.

Se conocen en la técnica métodos de someter a prueba anticuerpos para determinar la capacidad de unirse a cualquier porción funcional del TCR de la invención e incluyen cualquier ensayo de unión antígeno-anticuerpo, tal como, por ejemplo, radioinmunoensayo (RIA), ELISA, inmunotransferencia de tipo Western, inmunoprecipitación y ensayos de inhibición competitiva (véase, por ejemplo, Janeway *et al.*, a continuación, y publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2002/0197266 A1).

Se conocen en la técnica métodos adecuados de producción de anticuerpos. Por ejemplo, se describen métodos de hibridoma convencionales, por ejemplo, en Köhler y Milstein, Eur. J. Immunol., 5, 511-519 (1976), Harlow y Lane (eds.), Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press (1988) y C.A. Janeway *et al.* (eds.), Immunobiology, 5ª ed., Garland Publishing, Nueva York, NY (2001)). Alternativamente, otros métodos, tales como métodos de VEB-hibridoma (Haskard y Archer, J. Immunol. Methods, 74(2), 361-67 (1984), y Roder *et al.*, Methods Enzymol., 121, 140-67 (1986)), y sistemas de expresión de vectores de bacteriófagos (véase, por ejemplo, Huse *et al.*, Science, 246, 1275-81 (1989)) se conocen en la técnica. Además, se describen métodos de producción de anticuerpos en animales no humanos, por ejemplo, en las patentes estadounidenses 5.545.806, 5.569.825 y 5.714.352, y la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2002/0197266 A1.

La presentación en fagos puede usarse además para generar el anticuerpo dado a conocer en el presente documento. A este respecto, las bibliotecas de fagos que codifican para dominios variables (V) de unión a antígeno de anticuerpos pueden generarse usando técnicas convencionales de biología molecular y de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Sambrook *et al.* (eds.), Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York (2001)). El fago que codifica para una región variable con la especificidad deseada se selecciona para unión específica al antígeno deseado, y se reconstituye un anticuerpo completo o parcial que comprende el dominio variable seleccionado. Se introducen secuencias de ácido nucleico que codifican para el anticuerpo reconstituido en una línea celular adecuada, tal como una célula de mieloma usada para la producción de hibridoma, de tal manera que la célula secreta los anticuerpos que tienen las características de anticuerpos monoclonales (véase, por ejemplo, Janeway *et al.*, citado anteriormente, Huse *et al.*, citado anteriormente, y la patente estadounidense 6.265.150).

Pueden producirse anticuerpos mediante ratones transgénicos que son transgénicos para genes de inmunoglobulinas de cadena pesada y ligera específicos. Tales métodos se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en las patentes estadounidenses 5.545.806 y 5.569.825, y Janeway *et al.*, citado anteriormente.

En la técnica se conocen bien métodos para generar anticuerpos humanizados y se describen en detalle, por ejemplo, en Janeway *et al.*, citado anteriormente, las patentes estadounidenses 5.225.539, 5.585.089 y 5.693.761, la patente europea n.º 0239400 B1 y la patente británica n.º 2188638. Pueden generarse también anticuerpos humanizados usando la tecnología de remodelado de superficie de anticuerpos descrita, por ejemplo, en la patente estadounidense 5.639.641 y Pedersen *et al.*, J. Mol. Biol., 235, 959-973 (1994).

La divulgación también proporciona porciones de unión a antígeno de cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento. La porción de unión a antígeno puede ser cualquier porción que tiene al menos un sitio de unión a antígeno, tal como Fab, F(ab')₂, dsFv, sFv, diacuerpos y triacuerpos.

Un fragmento de anticuerpo de región variable de cadena sencilla (sFv), que consiste en un fragmento de Fab truncado que comprende el dominio variable (V) de una cadena pesada de anticuerpo unido a un dominio V de una cadena de anticuerpo ligera por medio de un péptido sintético, puede generarse usando técnicas de tecnología de ADN recombinante habituales (véase, por ejemplo, Janeway *et al.*, citado anteriormente). De forma similar, pueden prepararse fragmentos de región variable estabilizados con disulfuro (dsFv) mediante tecnología de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Reiter *et al.*, Protein Engineering, 7, 697-704 (1994)). Los fragmentos de anticuerpo de la invención, sin embargo, no se limitan a estos tipos a modo de ejemplo de fragmentos de anticuerpo.

Además, el anticuerpo, o porción de unión a antígeno del mismo, puede modificarse para comprender un marcador detectable, tal como, por ejemplo, un radioisótopo, un fluoróforo (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE)), una enzima (por ejemplo, fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante), y partículas elementales (por ejemplo, partículas de oro).

- 5 Los TCR, polipéptidos, proteínas, (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos), ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped (incluyendo poblaciones de las mismas), y anticuerpos (incluyendo porciones de unión a antígeno de los mismos) de la invención, pueden aislarse y/o purificarse. El término "aislado" según se usa en el presente documento quiere decir que se ha retirado de su ambiente natural. El término "purificado" según se usa en el presente documento quiere decir que se ha aumentado en pureza, en el que "pureza" es un término relativo, y no debe interpretarse necesariamente como pureza absoluta. Por ejemplo, la pureza puede ser de al menos aproximadamente el 50 %, puede ser mayor del 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 %, el 95 %, o puede ser del 100 %.

- 15 Los TCR, polipéptidos, proteínas, (incluyendo porciones funcionales y variantes funcionales de los mismos), ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped (incluyendo poblaciones de las mismas), y anticuerpos (incluyendo porciones de unión a antígeno de los mismos) de la invención, todos los cuales se denominan conjuntamente "materiales de TCR de la invención" a continuación en el presente documento, pueden formularse en una composición, tal como una composición farmacéutica. A este respecto, la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende cualquiera de los TCR, polipéptidos, proteínas, porciones funcionales, variantes funcionales, ácidos nucleicos, vectores de expresión, células huésped (incluyendo poblaciones de las mismas), y anticuerpos (incluyendo porciones de unión a antígeno de los mismos) y un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la invención que contienen cualquiera de los materiales de TCR de la invención pueden comprender más de un material de TCR de la invención, por ejemplo, un polipéptido y un ácido nucleico, o dos o más TCR diferentes. Alternativamente, la composición farmacéutica puede comprender un material de TCR de la invención en combinación con otros agentes o fármacos farmacéuticamente activos, tales como un agente quimioterápico, por ejemplo, asparaginasa, busulfano, carboplatino, cisplatino, daunorubicina, doxorubicina, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxiurea, metotrexato, paclitaxel, rituximab, vinblastina, vincristina, etc.

- 30 Preferiblemente, el portador es un portador farmacéuticamente aceptable. Con respecto a composiciones farmacéuticas, el portador puede ser cualquiera de los usados convencionalmente y se limita sólo por consideraciones físicoquímicas, tales como solubilidad y falta de reactividad con el/los compuesto(s) activo(s), y por la vía de administración. Los portadores farmacéuticamente aceptables descritos en el presente documento, por ejemplo, vehículos, adyuvantes, excipientes y diluyentes, los conocen bien los expertos en la técnica y están fácilmente disponibles para el público. Se prefiere que el portador farmacéuticamente aceptable sea uno que es químicamente inerte para el/los agente(s) activo(s) y uno que no tenga ningún efecto secundario perjudicial ni toxicidad en las condiciones de uso.

- 40 La elección de portador se determinará en parte por el material de TCR de la invención particular, así como por el método particular usado para administrar el material de TCR de la invención. Por consiguiente, hay una diversidad de formulaciones adecuadas de la composición farmacéutica de la invención. Las siguientes formulaciones para administración oral, de aerosol, parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal e interperitoneal son a modo de ejemplo y de ninguna manera son limitativas. Puede usarse más de una vía para administrar los materiales de TCR de la invención, y en determinados casos, una vía particular puede proporcionar una respuesta más inmediata y más eficaz que otra vía.

Los expertos en la técnica conocen bien formulaciones tópicas. Tales formulaciones son particularmente adecuadas en el contexto de la divulgación para aplicación a la piel.

- 45 Formulaciones adecuadas para administración oral pueden consistir en (a) disoluciones líquidas, tales como una cantidad eficaz del material de TCR de la invención disuelto en diluyentes, tales como agua, solución salina o zumo de naranja; (b) cápsulas, sobres, comprimidos, pastillas para chupar y trociscos, que contienen cada uno una cantidad predeterminada del componente activo, como sólidos o gránulos; (c) polvos; (d) suspensiones en un líquido apropiado; y (e) emulsiones adecuadas. Las formulaciones líquidas pueden incluir diluyentes, tales como agua y alcoholes, por ejemplo, etanol, alcohol bencílico, y los alcoholes polietilénicos, o bien con o bien sin la adición de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable. Las formas de cápsula pueden ser del tipo de gelatina de cubierta dura o blanda normal que contiene, por ejemplo, tensioactivos, lubricantes y cargas inertes, tales como lactosa, sacarosa, fosfato de calcio y almidón de maíz. Las formas de comprimidos pueden incluir uno o más de lactosa, sacarosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico, celulosa microcristalina, goma arábiga, gelatina, goma guar, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa sódica, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, ácido esteárico y otros excipientes, colorantes, diluyentes, agentes tamponantes, agentes disgregantes, agentes humectantes, conservantes, agentes saborizantes y otros excipientes compatibles farmacológicamente. Las formas de pastillas para chupar pueden comprender el material de TCR de la invención en un sabor, habitualmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto, así como pastillas que comprenden el material de TCR de la invención en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga, emulsiones, geles y similares que contienen, además, tales excipientes según se conocen en la técnica.

El material de TCR de la invención, solo o en combinación con otros componentes adecuados, puede producirse para dar formulaciones de aerosol que van a administrarse por medio de inhalación. Estas formulaciones de aerosol pueden colocarse en propulsores aceptables presurizados, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares. También pueden formularse como productos farmacéuticos para preparaciones no presurizadas, tales como en un nebulizador o un atomizador. Tales formulaciones de pulverización también pueden usarse para pulverizar mucosas.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen disoluciones de inyección estériles isotónicas, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que vuelven la disolución isotónica con la sangre del receptor deseado, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizadores y conservantes. El material de TCR de la invención puede administrarse en un diluyente fisiológicamente aceptable en un portador farmacéutico, tal como un líquido estéril o mezcla de líquidos, incluyendo agua, solución salina, dextrosa acuosa y disoluciones de azúcares relacionados, un alcohol, tal como etanol o alcohol hexadecílico, un glicol, tal como propilenglicol o polietilenglicol, dimetilsulfóxido, glicerol, cetales tales como 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol, éteres, poli(etilenglicol) 400, aceites, ácidos grasos, ésteres o glicéridos de ácidos grasos, o glicéridos de ácidos grasos acetilados con o sin la adición de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable, tal como un jabón o un detergente, agente de suspensión, tal como pectina, carbómeros, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa, o agentes emulsionantes y otros adyuvantes farmacéuticos.

Los aceites que pueden usarse formulaciones parenterales incluyen aceites de petróleo, animales, vegetales o sintéticos. Los ejemplos específicos de aceites incluyen de cacahuete, de soja, de sésamo, de semilla de algodón, de maíz, de oliva, petrolato y minerales. Los ácidos grasos adecuados para su uso en formulaciones parenterales incluyen ácido oleico, ácido esteárico y ácido isoesteárico. Oleato de etilo y miristato de isopropilo son ejemplos de ésteres de ácidos grasos adecuados.

Los jabones adecuados para su uso en formulaciones parenterales incluyen sales de metales alcalinos, amonio y trietanolamina grasas, y los detergentes adecuados incluyen (a) detergentes catiónicos tales como, por ejemplo, haluros de dimetildialquilamonio, y haluros de alquilpiridinio, (b) detergentes aniónicos tales como, por ejemplo, alquilo, arilo, y sulfonatos de olefinas, sulfatos de alquilos, olefinas, éteres, y monoglicéridos, y sulfosuccinatos, (c) detergentes no iónicos tales como, por ejemplo, óxidos de amina grasos, alcanolaminas de ácidos grasos y copolímeros de polioxietileno-polipropileno, (d) detergentes anfóteros tales como, por ejemplo, alquil- β -aminopropionatos y sales de amonio cuaternario de 2-alquil-imidazolina, y (e) mezclas de los mismos.

Las formulaciones parenterales contendrán normalmente desde aproximadamente el 0,5 % hasta aproximadamente el 25 %, o más en peso del material de TCR de la invención en disolución. Pueden usarse conservantes y tampones. Con el fin de minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, tales composiciones pueden contener uno o más tensioactivos no iónicos que tienen un equilibrio hidrófilo-lipófilo (Hydrophile-Lipophile Balance, HLB) de desde aproximadamente 12 hasta aproximadamente 17. La cantidad de tensioactivo en tales formulaciones oscilará normalmente entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 15 % en peso. Los tensioactivos adecuados incluyen ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol-sorbitano, tales como monooleato de sorbitano y los aductos de alto peso molecular de óxido de etileno con una base hidrófoba, formados por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol. Las formulaciones parenterales pueden presentarse en recipientes sellados de dosis unitaria o multidosis, tales como ampollas y viales, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere sólo la adición del excipiente líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Pueden prepararse disoluciones y suspensiones de inyección extemporáneas a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos de la clase descrita previamente.

Las formulaciones inyectables son según la divulgación. Los requisitos para portadores farmacéuticos eficaces para composiciones inyectables se conocen bien por los expertos habituales en la técnica (véase, por ejemplo, *Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J.B. Lippincott Company, Filadelfia, PA, Banker and Chalmers, eds., páginas 238-250 (1982), y *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4ª ed., páginas 622-630 (1986)). Preferiblemente, cuando se administran células, por ejemplo, células T, las células se administran por medio de inyección.

Un experto en la técnica apreciará que, además de las composiciones farmacéuticas anteriormente descritas, los materiales de TCR dados a conocer en el presente documento pueden formularse como complejos de inclusión, tales como complejos de inclusión de ciclodextrina, o liposomas.

Para los propósitos de la invención, la cantidad o dosis del material de TCR de la invención administrado debe ser suficiente para efectuar, por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica, en el sujeto o animal durante un intervalo de tiempo razonable. Por ejemplo, la dosis del material de TCR de la invención debe ser suficiente para unirse a un antígeno de cáncer, o para detectar, tratar o prevenir cáncer en un periodo de desde aproximadamente 2 horas o más largo, por ejemplo, de 12 a 24 o más horas, desde el momento de la administración. En determinadas realizaciones, el periodo de tiempo podría ser incluso más largo. La dosis se determinará mediante la eficacia del material de TCR de la invención particular y el estado del animal (por ejemplo, ser humano), así como el peso corporal del animal (por ejemplo, ser humano) que va a tratarse.

Se conocen en la técnica muchos ensayos para determinar una dosis administrada. Para los propósitos de la invención, un ensayo, que comprende comparar el grado en el que las células diana se lisan o el IFN- γ se secreta por células T que expresan el TCR, polipéptido o proteína de la invención tras la administración de una dosis dada de tales células T a un mamífero entre un conjunto de mamíferos de los que a cada uno se le da una dosis diferente de las células T, podría usarse para determinar una dosis de partida que va a administrarse a un mamífero. El grado al que las células diana se lisan o el IFN- γ se secreta tras la administración de una dosis determinada puede someterse a ensayo mediante métodos conocidos en la técnica.

La dosis del material de TCR de la invención también se determinará mediante la existencia, naturaleza y grado de cualesquiera efectos secundarios adversos que podrían acompañar a la administración de un material de TCR de la invención particular. Normalmente, el médico especialista decidirá la dosificación del material de TCR de la invención con la que tratar a cada paciente individual, tomando en consideración una variedad de factores, tales como edad, peso corporal, salud general, dieta, sexo, material de TCR de la invención que va a administrarse, vía de administración y la gravedad del estado que se trata. A modo de ejemplo y no deseando limitar la invención, la dosis del material de TCR de la invención puede ser de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 1000 mg/kg de peso corporal del sujeto que se está tratando/día o más, desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal/día o más, o de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal/día o más. En una realización en la que el material de TCR de la invención es una población de células, el número de células administradas puede variar, por ejemplo, desde aproximadamente 1×10^6 hasta aproximadamente 1×10^{11} células o más.

Un experto habitual en la técnica apreciará fácilmente que los materiales de TCR de la invención dados a conocer en el presente documento pueden modificarse de varias maneras, de modo que la eficacia terapéutica o profiláctica de los materiales de TCR de la invención se aumenta a lo largo de la modificación. Por ejemplo, los materiales de TCR de la invención pueden conjugarse o bien directamente o bien indirectamente a través de un puente con un resto de direccionamiento. La práctica de conjugar compuestos, por ejemplo, materiales de TCR de la invención, con restos de direccionamiento se conoce en la técnica. Véase, por ejemplo, Wadwa *et al.*, J. Drug Targeting 3: 111 (1995) y la patente estadounidense 5.087.616. El término "resto de direccionamiento" según se usa en el presente documento, se refiere a cualquier molécula o agente que reconoce y se une específicamente a un receptor de superficie celular, tal que el resto de direccionamiento dirige la administración de los materiales de TCR de la invención a una población de células sobre cuya superficie se expresa el receptor. Los restos de direccionamiento incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos, o fragmentos de los mismos, péptidos, hormonas, factores de crecimiento, citocinas y cualesquiera otros ligandos naturales o no naturales, que se unen a los receptores de superficie de las células (por ejemplo, receptor de factor de crecimiento epitelial (EGFR), receptor de células T (TCR), receptor de células B (BCR), CD28, receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), receptor de acetilcolina nicotínico (nAChR), etc.). El término "puente" según se usa en el presente documento, se refiere a cualquier agente o molécula que une los materiales de TCR de la invención al resto de direccionamiento. Un experto habitual en la técnica reconoce que los sitios en los materiales de TCR de la invención, que no son necesarios para la función de los materiales de TCR de la invención, son sitios ideales para unir un puente y/o un resto de direccionamiento, siempre que el puente y/o el resto de direccionamiento, una vez unidos a los materiales de TCR de la invención, no interfiera(n) con la función de los materiales de TCR de la invención, es decir, la capacidad para unirse a MAGE-A3 o MAGE-A12; o para detectar, tratar o prevenir cáncer.

Alternativamente, los materiales de TCR de la invención pueden modificarse para dar una forma de depósito, tal que la manera en la que los materiales de TCR de la invención se liberan dentro del cuerpo al que se administran se controla con respecto al tiempo y la ubicación dentro del cuerpo (véase, por ejemplo, la patente estadounidense 4.450.150). Las formas de depósito de los materiales de TCR de la invención puede ser, por ejemplo, una composición implantable que comprende los materiales de TCR de la invención y un material poroso o no poroso, tal como un polímero, en el que los materiales de TCR de la invención se encapsulan mediante o se difunden por todo el material y/o degradación del material no poroso. El depósito se implanta después en la ubicación deseada dentro del cuerpo y los materiales de TCR de la invención se liberan del implante a una velocidad predeterminada.

Se contempla que las composiciones farmacéuticas, TCR, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped o poblaciones de células de la invención, pueden usarse en métodos de tratar o prevenir cáncer. Sin restringirse a ninguna teoría en particular, los TCR de la invención se cree que se unen específicamente a MAGE-A3 MAGE-A12, tal que el TCR (o polipéptido o proteína de la invención relacionados) cuando se expresan por una célula puede mediar en una respuesta inmunitaria contra una célula diana que expresa MAGE-A3 o MAGE-A12. A este respecto, la divulgación proporciona un método de tratar o prevenir cáncer en un huésped, que comprende administrar al huésped cualquiera de las composiciones farmacéuticas, TCR, polipéptidos o proteínas descritos en el presente documento, cualquier ácido nucleico o vector de expresión recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para cualquiera de los TCR, polipéptidos, proteínas descritos en el presente documento, o cualquier célula huésped o población de células que comprende un vector recombinante que codifica para cualquiera de los TCR, polipéptidos o proteínas descritos en el presente documento, en una cantidad eficaz para tratar o prevenir cáncer en el huésped.

Los términos "tratar" y "prevenir" así como palabras derivadas de ellos, según se usan en el presente documento, no implican necesariamente tratamiento o prevención al 100 % o completos. Más bien, hay grados variables de

tratamiento o prevención de los cuales un experto habitual en la técnica reconoce como que tienen un efecto beneficioso o terapéutico potencial. A este respecto, los métodos de la invención pueden proporcionar cualquier cantidad de cualquier nivel de tratamiento o prevención de cáncer en un huésped. Además, el tratamiento o prevención proporcionado por el método de la invención puede incluir tratamiento o prevención de uno o más estados o síntomas de la enfermedad, por ejemplo, cáncer, que está tratándose o previniéndose. Además, para los propósitos en el presente documento, "prevención" puede abarcar retardar la aparición de la enfermedad, o un síntoma o estado de la misma.

También se proporciona un método de detección de la presencia de cáncer en un huésped. El método comprende (i) poner en contacto una muestra que comprende células del cáncer con cualesquiera de los TCR, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped, poblaciones de células, o anticuerpos, o porciones de unión a antígeno de los mismos de la invención, descritos en el presente documento, formando de este modo un complejo, y detectar el complejo, en el que la detección del complejo es indicativa de la presencia de cáncer en el huésped.

Con respecto al método de la invención de detección de cáncer en un huésped, la muestra de células del cáncer puede ser una muestra que comprende células completas, lisados de las mismas, o una fracción del lisado de las células completas, por ejemplo, una fracción nuclear o citoplásmica, una fracción de proteína completa, o una fracción de ácido nucleico.

Para los propósitos del método de detección de la invención, la puesta en contacto puede tener lugar *in vitro* o *in vivo* con respecto al huésped. Preferiblemente, la puesta en contacto es *in vitro*.

Además, la detección del complejo puede producirse a través de cualquier número de maneras conocidas en la técnica. Por ejemplo, los TCR, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes, células huésped, poblaciones de células, o anticuerpos, o porciones de unión a antígeno de los mismos de la invención, descritos en el presente documento, pueden marcarse con un marcador detectable tal como, por ejemplo, un radioisótopo, un fluoróforo (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE)), una enzima (por ejemplo, fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante), y partículas elementales (por ejemplo, partículas de oro).

Para los fines de los métodos de la invención, en los que se administran las células huésped o poblaciones de células, las células pueden ser células que son alogénicas o autólogas con respecto al huésped. Preferiblemente, las células son autólogas con respecto al huésped.

Con respecto a los métodos de la invención, el cáncer puede ser cualquier cáncer, incluyendo cualquiera de sarcomas (por ejemplo, sarcoma sinovial, sarcoma osteogénico, leiomiomasarcoma de útero y rhabdomyosarcoma alveolar), linfomas (por ejemplo, linfoma de Hodgkin y linfoma no Hodgkin), carcinoma hepatocelular, glioma, cánceres de cabeza (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cánceres de cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), cáncer linfocítico agudo, leucemias (por ejemplo, leucemia mieloide aguda y leucemia linfocítica crónica), cáncer de huesos, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer del ano, del conducto anal o anorrectal, cáncer del ojo, cáncer de las vías biliares intrahepáticas, cáncer de las articulaciones, cáncer del cuello, vesícula biliar o pleura, cáncer de la nariz, cavidad nasal u oído medio, cáncer de la cavidad oral, cáncer de la vulva, cáncer mieloide crónico, cánceres de colon (por ejemplo, carcinoma de colon), cáncer de esófago, cáncer de cuello uterino, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, cáncer de hipofaringe, cáncer de laringe, cánceres de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cánceres de pulmón (por ejemplo, carcinoma de pulmón no microcítico), mesotelioma maligno, melanoma, mieloma múltiple, cáncer nasofaríngeo, cáncer de ovario, cáncer pancreático, cáncer del peritoneo, de epiplón y mesentérico, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer rectal, cánceres de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales), cáncer del intestino delgado, cáncer de tejidos blandos, cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer de tiroides y cánceres uroteliales (por ejemplo, cáncer de uréter y cáncer de la vejiga urinaria).

El huésped referido en los métodos de la invención puede ser cualquier huésped. Preferiblemente, el huésped es un mamífero. Según se usa en el presente documento, el término "mamífero" se refiere a cualquier mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a, mamíferos del orden *Rodentia*, tales como ratones y hámsteres, y mamíferos del orden *Lagomorpha*, tales como conejos. Se prefiere que los mamíferos sean del orden *Carnivora*, incluyendo félidos (gatos) y cánidos (perros). Se prefiere más que los mamíferos sean del orden *Artiodactyla*, incluyendo bóvidos (vacas) y suidos (cerdos) o del orden *Perssodactyla*, incluyendo équidos (caballos). Es más preferido que los mamíferos sean del orden primates, cébidos o simioides (monos) o del orden *Anthropoids* (seres humanos y simios). Un mamífero especialmente preferido es el ser humano.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención pero, por supuesto, no deben interpretarse como que limitan su alcance en modo alguno.

EJEMPLO 1

Este ejemplo demuestra la clonación de genes de TCR a partir de clones de células T y la generación de constructos de TCR.

Se identificaron inicialmente cuatro clones de células T que reconocieron epítomos de la familia de genes MAGE-A en el contexto de los alelos de clase I dominantes HLA-A*01 y C*07. Aproximadamente el 30 % de la población de pacientes de melanoma expresa HLA-A*01, y más del 95 % de los individuos HLA-A*01⁺ expresan el subtipo HLA-A*0101, mientras que más del 50 % de los pacientes de melanoma expresan uno de dos subtipos de HLA-C*07 dominantes, C*07:01 y C* 07:02.

Las cadenas α y β de TCR expresadas se aislaron de dos clones, A10 y 13-18, que reconocieron los residuos 168-176 de proteína MAGE-A3 (MAGE-A3:168-176) en el contexto de HLA-A*01. Además, los TCR restringidos en HLA-C*07 que reconocen un péptido correspondiente a los residuos 170-178 de la proteína MAGE-A12 (MAGE-A12:170-178) se aislaron de los clones 502 y FM8.

Las cadenas α y β que codifican para TCR funcionales se aislaron de dos clones de células T, reactivos con HLA-C*07, reactivos con MAGE-A12, PHIN LB831-501D/19, denominados "502" (Heidecker *et al.*, J. Immunol., 164: 6041-6045 (2000)) y "FM8" (Panelli *et al.*, J. Immunol., 164: 4382-4392 (2000)), así como de dos clones de células T, restringidos en HLA-A*01, reactivos con MAGE-A3, LAU147 CTL1 o 810/A10, denominados "A10" (Parmentier *et al.*, Nat. Immunol., 11: 449-454 (2010)) y NW1000 AVP-1 13-18, denominados "13-18". Brevemente, se usó oligo-dT para transcribir de forma inversa el ARN total aislado de los clones de células T en ADNc usando el kit de amplificación de ADNc SMART RACE (Clontech, Mountain View, CA). Las cadenas α y β de TCR expresadas por los clones de células T se identificaron llevando a cabo reacciones de 5'-RACE usando un cebador 5'-CACTGTTGCTCTTGAAGTCC-3' (SEQ ID NO: 55) que es complementario a la región constante de cadena α de TCR y 5'-CAGGCAGTATCTGGAGTCATTGAG-3' (SEQ ID NO: 56) que es complementario a la región constante de cadena β de TCR en combinación con cebadores adaptadores del kit de síntesis de ARN SMART. Después de secuenciar los productos de 5'-RACE, se amplificaron los productos génicos de longitud total usando cebadores específicos diseñados para amplificar las cadenas α y β de TCR de longitud total apropiadas. El TCR de A10 expresa AV12-1/BV24-1, de 13-18 expresa AV12-3/BV15, TCR de 502 expresa AV13-1/BV25-1 y de FM8 expresa AV38-2/BV4-3.

Se insertaron los transcritos que codifican para las cadenas α y β emparejadas para cada uno de los cuatro clones de células T en los vectores de expresión retrovirales MSGV1.

EJEMPLO 2

Este ejemplo demuestra la reactividad de células que expresan TCR-A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 13 y 14) y TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 24 y 25) en respuesta a células HLA-A1+/MAGE-A3+.

Se evaluaron las células T estimuladas anti-CD3 transducidas con TCR-A10 (SEQ ID NO: 46) y TCR 13-18 (SEQ ID NO: 48) para determinar su capacidad de reconocer un panel de líneas celulares de melanoma HLA-A*01⁺ que expresan MAGE-A3. Las células no transducidas (UT) y transducidas se co-cultivaron durante la noche con diversas líneas de células tumorales (tablas 1A, 1B y figura 6A), y se midió interferón-gamma (IFN- γ) (pg/ml).

TABLA 1A

Tumor	HLA-A*01	Copias MAGE-A3
1860 mel	+	12.100
397 mel	+	32.700
SK23 mel	+	18.400
2984 mel	+	14.900
2951 mel	+	12.300
A375 mel	+	3.670
537 mel	+	4.270
1300-A1 mel	+	7.280
1300 mel	-	13.600
2661 RCC	+	<1.000

TABLA 1B

Tumor	HLA-A*01	MAGE-A3
2984 mel -	+	+
397 mel	+	+
2630 mel	+	+
2556 mel	+	+
526 mel	-	+
624 mel	-	+
2359 mel	-	+
2661 RCC	+	-

Los resultados indican que seis de las ocho líneas celulares de melanoma HLA-A*01+/MAGE-A3+ que se evaluaron estimularon niveles más altos de liberación de IFN- γ a partir de TCR A10 que a partir de células T transducidas con TCR 13-18 (figura 1A). Se liberaron niveles inferiores de IFN- γ tras el co-cultivo de células T transducidas con TCR con dos líneas celulares de melanoma de HLA-A1+ que expresaron niveles relativamente bajos de MAGE-A3, A375 mel y 537 mel, pero células T transducidas con TCR A10 liberaron niveles más altos de IFN- γ que células T transducidas con TCR 13-18 en respuesta a estas células diana. Estas respuestas se restringieron por HLA-A1 porque 1300 mel, que carecía de expresión de HLA-A1, no logró estimular la liberación de IFN- γ a partir de células transducidas con TCR A10 y TCR 13-18, mientras que una línea celular generada mediante transfección de la línea celular de 1300 mel parental con HLA-A* 01, designada 1300-A1, estimuló la liberación de IFN- γ a partir de células T transducidas con TCR A10 y TCR 13-18. Una línea de células de cáncer renal HLA-A*01+ que carecía de expresión de MAGE-A3, 2661 RCC, no logró estimular una liberación de IFN- γ significativa a partir de células T transducidas con TCR A10 y TCR 13-18. Estos resultados demuestran que las células que expresan TCR A10 liberan niveles más altos de IFN- γ que las células que expresan TCR-13-18 cuando se co-cultivan con células diana MAGE-A3+/HLA-A1+. Estos resultados también demuestran que TCR A10 y TCR-13-18 se estimulan en presencia de células diana MAGE-A3+/HLA-A1+.

Los resultados de ensayos de co-cultivo llevados a cabo con PBMC transducidas demostraron que las células T transducidas con TCR A10 generaron niveles altos de IFN-gamma en respuesta a las líneas celulares tumorales 397 mel, 2984 mel y 2556 mel HLA-A*01+/MAGE-A3+. Los niveles de citocinas fueron entre cinco y diez veces aquellos generados a partir de células T transducidas con TCR 13-18 (figura 6A). Las líneas celulares 562, 624 y 2359 mel MAGE-A3+ pero negativas para HLA-A*01, así como la línea celular de cáncer renal 2661 RCC negativa para MAGE-A3 pero HLA-A*01+ 2661 no lograron estimular niveles significativos de citocinas a partir de células T transducidas o bien con TCR A10 o bien con 13-18 (figura 6A).

Se evaluaron los niveles de transducción de los TCR usando un ensayo de PCR cuantitativo llevado a cabo usando ADN genómico con cebadores directo (SEQ ID NO: 58) e inverso (SEQ ID NO: 59) y una sonda (SEQ ID NO: 60) diseñada para detectar específicamente el LTR retroviral MSGV1 pero no secuencias retrovirales endógenas humanas. Se normalizaron los niveles de los productos amplificados a una muestra de control positivo de PBMC que se había transducido con un TCR dirigido contra el epítipo NY-ESO-1:157-165 que se estimó que contenía aproximadamente el 80 % de células T transducidas tiñendo con un tetrámero de NY-ESO-1.

Las diferencias en la actividad de células T transducidas con el TCR A10 o 13-18 no parecían deberse a diferencias en la frecuencia de transducción con los dos TCR, ya que parecían ser equivalentes (figura 6B). Además, las células T transducidas con el TCR A10 reconocieron células diana incubadas con una concentración mínima de péptido 168-176 de MAGE-A3 0,5 nM, que era una concentración 10 veces más baja que la requerida para el reconocimiento por células transducidas con el TCR 13-18 (figura 6C), lo que indica que el TCR A10 poseía una avididad funcional más alta que el TCR 13-18.

Se evaluó la capacidad de células tumorales no cultivadas frescas de estimular células T transducidas o bien con TCR A10 (SEQ ID NO: 46) o bien con DMF5 (un TCR dirigido contra el epítipo de células T HLA-A*0201/MART-1:27-35). Se co-cultivaron células no transducidas (UT) y transducidas con diversos tumores frescos, y se midió IFN- γ (pg/ml).

Los resultados indicaron que las células T transducidas con TCR A10 reconocieron cuatro de los cuatro tumores frescos HLA-A*01+/MAGE-A3+ que se sometieron a prueba (FrTu 2767, FrTu 3178, FrTu 2823 y FrTu 3068), y las células T transducidas con DMF5 reconocieron ambas células tumorales frescas HLA-A*0201+/MART-1+ que se sometieron a prueba (FrTu 2851 y FrTu 3242) (figura 1B). Las células T transducidas con TCR A10 no lograron reconocer tumores frescos HLA-A*0201+, mientras que las células T transducidas con DMF5 no lograron reconocer tumores frescos, lo que indica que la secreción de IFN- γ por TCR A10 era una respuesta específica de HLA-A1+/MAGE-A3+.

Las células T que se transdujeron con TCR A10 y 13-18 reconocieron cinco de seis tumores frescos MAGE-A3+ y HLA-A*01+ (FrTu), FrTu 3178, 2767, 2823, 2830 y 3068, pero no reconocieron ni FrTu 2685, un tumor fresco HLA-A*01+ que carecía de expresión de MAGE-A3 ni los tres tumores frescos MAGE-A3+, FrTu 2181, 3242 y 2803, que carecían de expresión de HLA-A*01 (figura 7A; tabla 1C).

TABLA 1C

Tumor fresco	HLA-A*01	MAGE-A3
3178	+	+
2767	+	+
2823	+	+
2830	+	+
3068	+	+
2268	+	+
2685	+	-
2181	-	+
3242	-	+
2803	-	+

EJEMPLO 3

Este ejemplo demuestra la reactividad de células que expresan TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 34 y 35) o TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 44 y 45) en respuesta a co-cultivo con células HLA-Cw*07+/MAGE-A12+.

- 5 Se transdujeron células T CD8+ estimuladas con anticuerpo anti-CD3 aisladas a partir de dos muestras de PBMC de pacientes con un constructo de control que codifica para el receptor de factor de crecimiento nervioso (Nerve Growth Factor Receptor, NGFR) de baja afinidad humano truncado, se evaluaron TCR 502 (SEQ ID NO: 47), o TCR FM8 (SEQ ID NO: 49) en su capacidad de reconocer un panel de líneas celulares de melanoma Cw*07+ que expresan MAGE-A12.
- 10 Se evaluó la expresión del producto génico de MAGE-A12 mediante Q-PCR usando dos cebadores (SEQ ID NO: 61 y 62) diseñados para amplificar específicamente el producto génico de MAGE-A12 pero no otros miembros de la familia de genes MAGE-A así como una sonda específica de MAGE-A12 (SEQ ID NO: 63). Se determinó la expresión antigénica usando controles de plásmidos como patrones para estimar cantidades de números de copias y usando gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) para la normalización. Las líneas de células tumorales y
- 15 los tumores frescos que expresan más de 1.000 copias de MAGE-A12 por 10⁶ copias de GAPDH se denotaron como positivas para la expresión de MAGE-A12.

Se co-cultivaron células transducidas durante la noche con diversas líneas de células tumorales (tabla 2A; figuras 6D y 6F), y se midió IFN- γ (pg/ml).

TABLA 2A

Estimulador	Alelo HLA-C	MAGE-A12
1910 mel	0701, 0303	+
586 mel	0701	+
2359 mel	0701, 16	+
F002 mel	0701, 1203	+
1300 mel	0702	+
624 mel	0702, 0802	+
SK23 mel	0701, 0702	+
1909 mel	0701, 0702	+
1011 mel	0702	-
397 mel	0701	+
526 mel	-	+
2556 mel	-	+
2984 mel	-	+
2630 mel	0701	-

- 20 Los resultados demostraron que las células T transducidas con TCR 502 reconocieron ocho de las ocho líneas celulares de melanoma MAGE-A12+ sometidas a prueba que expresan o bien HLA-Cw*0701 o bien 0702, mientras que células T transducidas con TCR FM8 sólo reconocieron líneas celulares de melanoma que expresan HLA-Cw*0702 (figuras 2A y 2B; véase también la figura 6F). Además, células T transducidas con TCR 502 liberaron niveles más altos de IFN- γ en respuesta a que HLA-Cw*0702+ selecciona como diana SK23 mel, 1300 mel y 624 mel, en comparación con las células T transducidas con TCR FM8 (figuras 6D y 6F). Las células 1011 mel, que expresaron HLA-Cw* 0702 pero carecían de expresión de MAGE-A12, no estimularon la liberación de citocinas significativa a partir de células transducidas con TCR 502 o TCR FM8. Las células T transducidas con un constructo de control que codifica para NGFR no lograron responder significativamente a ninguna de las dianas sometidas a prueba. Estos resultados demuestran que las células que expresan TCR 502 liberan niveles más altos de IFN- γ que
- 25

las células que expresan TCR FM8 cuando se co-cultivan con células diana MAGE-A12+/HLA-Cw7 y que TCR 502 reconoce MAGE-A12 en el contexto o bien de HLA-Cw0701 o bien de HLA-Cw0702. Estos resultados demuestran también que TCR A502 y TCR FM8 se estimulan en presencia de células MAGE-A12+.

- 5 Las células T transducidas con TCR 502 reconocieron los tumores 624 mel HLA-C*0702+, MAGE-A12+ así como dos tumores 397 y 2359 mel HLA-C*07:01+, MAGE-A12+ mientras que las células T transducidas con FM8 reconocieron la línea celular tumoral 624 mel HLA-C*07:02+ pero no lograron reconocer 397 y 2359 mel (figura 6D). Ninguna población de células T transducidas reconoció líneas celulares de melanoma 526, 2556 o 2984 mel MAGE-A3+, que carecían de expresión de HLA-C*07, o 2630 mel, una línea celular tumoral HLA-C*07:01+ que carecía de expresión de MAGE-A12 (figura 6D). Estas diferencias no parecían deberse a diferencias en las frecuencias de transducción de los dos TCR (medidas tal como se describe en el ejemplo 2), que parecían ser similares en células transducidas con uno u otro TCR (figura 6B). Además, las células transducidas con el TCR 502 reconocieron células diana incubadas con una concentración mínima de MAGE-A12:170-178 2,5 nM, una concentración 100 veces menor que la que se requiere para el reconocimiento por células transducidas con el TCR FM8 (figura 6E), lo que indica que el TCR 502 poseía una avidéz funcional más alta que el TCR FM8.
- 15 Se evaluaron entonces las células T que se transdujeron con TCR reactivos con MAGE-A12 en sus respuestas a digestos enzimáticos de células tumorales no cultivadas, frescas. Las células T transducidas con TCR 502 reconocieron uno de los cuatro tumores frescos MAGE-A12+ que expresaron HLA-C*0701, FrTu 3068, y TCR 502 así como células T transducidas con FM8 reconocieron uno de dos tumores MAGE-A12+ que expresaron HLA-C*07:02, FrTu 2181 (figura 7B; tabla 2B). Ninguna población de células T transducidas con TCR reconoció los tumores frescos 2767 o 2823 HLA-C*07:01- y 07:02-, o los tumores 2685, 3242 y 2803 MAGE-A12- que carecían de expresión de MAGE-A12.
- 20

TABLA 2B

Tumor fresco	HLA-C*07	MAGE-A12
3068	01	+
2181	02	+
3178	01	+
2830	01	+
2268	01, 02	+
2767	-	+
2823	-	+
2685	01	-
3242	01	-
2803	02	-

EJEMPLO 4

Este ejemplo demuestra la población que puede tratarse usando los TCR de la invención.

- 25 Aproximadamente el 28 % de la población de pacientes expresa HLA-A*01, y aproximadamente el 54 % de la población de pacientes expresa HLA-Cw*07. Aproximadamente el 27 % y aproximadamente el 31 % de la población de pacientes expresan dos subtipos dominantes de HLA-Cw*07, Cw*0701 y Cw*0702, respectivamente. La figura 3A ilustra el porcentaje acumulativo de la población que se esperaría que pudiese tratarse mediante el uso de TCR restringidos por HLA-A1, HLA-A2 y/o HLA-Cw7 (basándose en los porcentajes de estos alelos en la población de raza blanca normal).
- 30

- Debido a que aproximadamente el 30 % de los pacientes expresa niveles altos de MAGE-A3 y MAGE-A12, el uso de los TCR de la invención permitirá un porcentaje significativamente más alto de pacientes que son elegibles para inmunoterapias adoptivas basadas en TCR. Las figuras 3B y 3C ilustran el porcentaje acumulativo de las poblaciones de pacientes con melanoma humano (figura 3B) y sarcoma celular sinovial (figura 3C) que se esperaría que pudiesen tratarse usando TCR que reconoce NY-ESO-1 en el contexto de HLA-A2; MAGE-A3 en el contexto de HLA-A1; MAGE-A3 y MAGE-A12 en el contexto de HLA-A2; y/o MAGE-A12 en el contexto de HLA-Cw7.
- 35

EJEMPLO 5

- Este ejemplo demuestra la reactividad de células que expresan TCR 502 o TCR FM8 en respuesta a co-cultivo con células diana que expresan HLA-Cw*0701 o HLA-Cw*0702 pulsadas con péptidos de diversas proteínas de la familia de antígenos MAGE.
- 40

Se co-cultivaron las células transducidas con NGFR, TCR 502 (SEQ ID NO: 47) o TCR FM8 (SEQ ID NO: 49) con células que expresan HLA-Cw*0701 o HLA-Cw*0702. Se midió la secreción de IFN- γ (pg/ml).

Los resultados demostraron que las células transducidas con TCR 502 reconocen células que expresan HLA-Cw*0701 o HLA-Cw*0702 cuando se pulsan con MAGE-A12 (VRIGHLYIL; SEQ ID NO: 4), y que las células

transducidas con TCR FM8 reconocieron células que expresan HLA-Cw*0702 cuando se pulsan con MAGE-A12 (VRIGHLYIL; SEQ ID NO: 4) (figura 4). Las células transducidas con NGFR no mostraron ninguna reactividad significativa.

EJEMPLO 6

5 Este ejemplo demuestra la especificidad de los TCR anti-MAGE-A3 y anti-MAGE-A12.

Se transdujeron PMBC a partir de un donante único tras la estimulación con anticuerpo anti-CD3 con PBMC que no se transdujeron o se transdujeron con TCR 502 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 47), TCR FM8 anti-MAGE-A12 (SEQ ID NO: 49), TCR A10 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 46), TCR 13-18 anti-MAGE-A3 (SEQ ID NO: 48) o TCR 112-120 anti-MAGE-A3. Trece días después de la estimulación, las células T transducidas se incubaron con las dianas tumorales expuestas en la tabla 3 en un ensayo de liberación de ⁵¹Cr de 4 horas convencional.

TABLA 3

	MAGE-A3	MAGE-A12	HLA-A	HLA-C
397 mel	+	+	01/02	0401/0701
624 mel	+	+	02/03	0702/0802
2984 mel	+	+	01/02	06
2661 RCC	-	-	01/02	07

Según se muestra en las figuras 5(A)-5(D), TCR 502 anti-MAGE-A12 lisó específicamente células tumorales que expresaban MAGE-A12 y HLA-Cw7 y no lisó células tumorales que carecían de expresión de MAGE-A12 o HLA-Cw7. TCR A10 anti-MAGE-A3 lisó específicamente células tumorales que expresaron MAGE-A3 y HLA-A1 y no lisó células tumorales que carecían de expresión de MAGE-A3 o HLA-A1.

EJEMPLO 7

Este ejemplo demuestra la especificidad de los TCR anti-MAGE-A3 y anti-MAGE-A12.

Se transfectó transitoriamente la línea celular de riñón de mono COS-7 o bien con HLA-A*01, C*07:01 o bien con C*07:02 más o bien MAGE-A3, A1, A2, A4, A6, A9, A10 o bien A12 durante la noche. Al día siguiente se añadieron las células T transducidas o bien con TCR A10, 13-18 o bien células de control no transducidas o bien con TCR 502, FM8 o bien células de control no transducidas y se evaluó la liberación de IFN-gamma soluble tras un co-cultivo durante la noche mediante ELISA.

Las células T transducidas con TCR A10 reactivo con MAGE-A3 reconocen células diana HLA-A1⁺ transfectadas con MAGE-A3 pero no lograron reconocer dianas transfectadas con constructos MAGE-A1, A2, A4, A6, A9, A10 o A12 (figura 8A) que codificaron para péptidos que difirieron en entre una y tres posiciones a partir del epítipo MAGE-A3:170-178. Las células T que se transdujeron o bien con TCR 502 o bien con FM8 reconocieron dianas HLA-C*07:02⁺ transfectadas con MAGE-A12 pero no con MAGE-A3, A1, A2, A4, A6, A9, A10 (figura 8B), mientras que las células T transducidas con TCR 502 pero no con FM8 reconocieron dianas HLA-C*07:01⁺ transfectadas con MAGE-A12 pero no los miembros de la familia MAGE-A adicionales sometidos a prueba (figura 8C).

EJEMPLO 8

Este ejemplo demuestra la reactividad de células T transducidas.

Se aislaron células T CD8⁺ y CD4⁺ purificadas mediante selección negativa usando kits de enriquecimiento de linfocitos T CD8 y CD4 (Becton/Dickinson, Franklin Lakes, N.J.), seguido por selección positiva usando perlas magnéticas para CD8 y CD4 (Becton/Dickinson). Se estimaron las células CD8⁺ y CD4⁺ aisladas mediante análisis de clasificación de células activada por fluorescencia (Fluorescence Activated Cell Sorting, FACS) para que contuviesen menos del 1 % de células T CD4⁺ y CD8⁺ contaminantes, respectivamente.

Se evaluaron después las respuestas de poblaciones separadas de células T CD8⁺ y CD4⁺ transducidas con TCR con respecto a dianas de células tumorales. Las células T CD4⁺ altamente purificadas transducidas con TCR A10 que contenían menos del 1 % de células T CD8⁺ contaminantes liberaron niveles bajos pero significativos de IFN-gamma en respuesta a la línea de células tumorales 397 mel MAGE-A3⁺ así como la línea de células tumorales 1300A1 mel MAGE-A3⁺ que se transfirieron de manera estable con HLA-A*01 (tabla 4A; figura 9B). Las células T CD8⁺ transducidas con TCR A10 liberaron interferón-gamma en respuesta a 397 mel o 1300-A1 mel (tabla 4A; figura 9A). Las células T CD8⁺ transducidas con TCR 502 o TCR FM8 liberaron interferón-gamma en respuesta a 624 mel y con TCR 502 liberaron interferón-gamma en respuesta a 397 mel (figura 9C y tabla 4B).

TABLA 4A

Línea celular	HLA-A*01	MAGE-A3
397 mel	+	+
1300 mel	+	+
1300-A1 mel	+	+
624 mel	-	+
2359 mel	-	+
2661 RCC	+	-

TABLA 4B

Línea celular	HLA-C*07	MAGE-A12
397 mel	01	+
624 mel	02	+
2359 mel	01	+
526 mel	-	+
2661 RCC	-	-

El uso de los términos “un(o)” y “una” y “el/la” y “al menos uno” y referentes similares en el contexto de describir la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse que abarca tanto el singular como el plural, a menos que se indique otra cosa en el presente documento o que se contradiga claramente por el contexto. El uso del término “al menos uno” seguido por una lista de uno o más elementos (por ejemplo, “al menos uno de A y B”) debe interpretarse que significa un elemento seleccionado de los elementos enumerados (A o B) o de cualquier combinación de dos o más de los elementos enumerados (A y B), a menos que se indique otra cosa en el presente documento o que se contradiga claramente por el contexto. Los términos “que comprende”, “que tiene”, “que incluye” y “que contiene” deben interpretarse como términos de extremos abiertos (es decir, que significan “incluyendo, pero sin limitarse a”) a menos que se señale otra cosa. La enumeración de intervalos de valores en el presente documento se pretende meramente que sirva como método abreviado de referirse individualmente a cada valor independiente que se encuentre dentro del intervalo, a menos que se indique otra cosa en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden llevarse a cabo en cualquier orden adecuado a no ser que se indique otra cosa en el presente documento o que se contradiga claramente de otra manera por el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o del lenguaje a modo de ejemplo (por ejemplo, “tal como”) proporcionado en el presente documento, se pretende simplemente que ilustre mejor la invención y no plantea una limitación sobre el alcance de la invención a menos que se reivindique otra cosa. Ningún lenguaje en la memoria descriptiva debe interpretarse como que indica cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

Se describen en el presente documento realizaciones preferidas, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Pueden resultar evidentes variaciones de esas realizaciones preferidas a los expertos habituales en la técnica tras la lectura de la descripción anterior. Los inventores esperan que los expertos empleen tales variaciones, según sea apropiado, y los inventores pretenden que la invención se ponga en práctica por lo demás tal como se describe específicamente en el presente documento.

Listado de secuencias

<110> LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA, REPRESENTADOS POR EL SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO DE SALUD Y SERVICIOS HUMANOS

<120> RECEPTORES DE CÉLULAS T QUE RECONOCEN ANTÍGENO MAGE RESTRINGIDO POR HLA-A1 O HLA-CW7

<130> EP929841FZ200gil

<140> Aún no asignado

<141> 11-09-2012

<150> Documento EP12761862.7

<151> 11-09-2012

<150> Documento PCT/US2012/054623

<151> 11-09-2012

<150> Documento US 61/535.086

<151> 15-09-2012

<160> 63

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

5 <211> 314

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

Met Pro Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu
1 5 10 15

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

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val
35 40 45

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

Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp
65 70 75 80

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Glu Gly Pro Ser
85 90 95

Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys
100 105 110

Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu
115 120 125

ES 2 834 070 T3

Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln
130 135 140

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu
145 150 155 160

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr
165 170 175

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

Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile
195 200 205

Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu
210 215 220

Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly
225 230 235 240

Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu
245 250 255

Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu
260 265 270

Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His
275 280 285

His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu
290 295 300

His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu
305 310

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 2

Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr
1 5

<210> 3

<211> 314

10 <212> PRT

ES 2 834 070 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 3

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

His Pro Arg Lys Leu Leu Thr Gln Asp Leu Val Gln Glu Asn Tyr Leu
245 250 255

Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu
260 265 270

Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His
275 280 285

His Leu Leu Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu
290 295 300

His Glu Trp Ala Phe Arg Glu Gly Glu Glu
305 310

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 4

Val Arg Ile Gly His Leu Tyr Ile Leu
1 5

<210> 5

<211> 6

10 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 5

Asn Ser Ala Ser Gln Ser
1 5

<210> 6

15 <211> 6

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 6

Val Tyr Ser Ser Gly Asn
1 5

20 <210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 7

Val Val Asn Arg Asp Asn Asp Met Arg
 1 5
 <210> 8
 <211> 5
 <212> PRT
 5 <213> *Homo sapiens*
 <400> 8
 Lys Gly His Asp Arg
 1 5
 <210> 9
 <211> 6
 10 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 9
 Ser Phe Asp Val Lys Asp
 1 5
 <210> 10
 15 <211> 12
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 10
 Ala Thr Ser Glu Gly Gly Pro Pro Tyr Glu Gln Tyr
 1 5 10
 20 <210> 11
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 11

ES 2 834 070 T3

Met Ile Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

Trp Val Trp Ser Gln Arg Lys Glu Val Glu Gln Asp Pro Gly Pro Phe
20 25 30

Asn Val Pro Glu Gly Ala Thr Val Ala Phe Asn Cys Thr Tyr Ser Asn
35 40 45

Ser Ala Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Asp Cys Arg Lys Glu
50 55 60

Pro Lys Leu Leu Met Ser Val Tyr Ser Ser Gly Asn Glu Asp Gly Arg
65 70 75 80

Phe Thr Ala Gln Leu Asn Arg Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile
85 90 95

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

Arg Asp Asn Asp Met Arg Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Thr Val Lys
115 120 125

Pro

<210> 12

<211> 132

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 12

ES 2 834 070 T3

Met Ala Ser Leu Leu Phe Phe Cys Gly Ala Phe Tyr Leu Leu Gly Thr
1 5 10 15

Gly Ser Met Asp Ala Asp Val Thr Gln Thr Pro Arg Asn Arg Ile Thr
20 25 30

Lys Thr Gly Lys Arg Ile Met Leu Glu Cys Ser Gln Thr Lys Gly His
35 40 45

Asp Arg Met Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Leu Gly Leu Arg Leu
50 55 60

Ile Tyr Tyr Ser Phe Asp Val Lys Asp Ile Asn Lys Gly Glu Ile Ser
65 70 75 80

Asp Gly Tyr Ser Val Ser Arg Gln Ala Gln Ala Lys Phe Ser Leu Ser
85 90 95

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

Ser Glu Gly Gly Pro Pro Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg
115 120 125

Leu Thr Val Thr
130

<210> 13

<211> 270

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 13

ES 2 834 070 T3

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

245

250

255

Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265 270

<210> 14

<211> 311

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 14

ES 2 834 070 T3

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

ES 2 834 070 T3

195

200

205

Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn
210 215 220

His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu
225 230 235 240

Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu
245 250 255

Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln
260 265 270

Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala
275 280 285

Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val
290 295 300

Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly
305 310

<210> 15

<211> 27

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 15

Arg Ala Lys Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
1 5 10 15

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 16

<211> 6

10 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 16

Asn Ser Ala Phe Gln Tyr
1 5

<210> 17

15 <211> 6

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*
 <400> 17
 Thr Tyr Ser Ser Gly Asn
 1 5
 <210> 18
 5 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 18
 Ala Met Arg Gly Ala Gln Lys Leu Val
 1 5
 10 <210> 19
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 19
 Leu Asn His Asn Val
 15 1 5
 <210> 20
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 20 <400> 20
 Tyr Tyr Asp Lys Asp Phe
 1 5
 <210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 25 <213> *Homo sapiens*
 <400> 21
 Ala Thr Ser Trp Asp Arg Gly Tyr Glu Gln Tyr
 1 5 10
 <210> 22
 <211> 131
 30 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 22

ES 2 834 070 T3

Met Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu
1 5 10 15

Ser Trp Val Trp Ser Gln Gln Lys Glu Val Glu Gln Asp Pro Gly Pro
20 25 30

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

Asn Ser Ala Phe Gln Tyr Phe Met Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Arg Lys
50 55 60

Gly Pro Glu Leu Leu Met Tyr Thr Tyr Ser Ser Gly Asn Lys Glu Asp
65 70 75 80

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

Phe Ile Arg Asp Ser Gln Pro Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala
100 105 110

Met Arg Gly Ala Gln Lys Leu Val Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr
115 120 125

Ile Asn Pro
130

<210> 23

<211> 131

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 23

ES 2 834 070 T3

Met Gly Pro Gly Leu Leu His Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Thr
1 5 10 15

Gly His Gly Asp Ala Met Val Ile Gln Asn Pro Arg Tyr Gln Val Thr
20 25 30

Gln Phe Gly Lys Pro Val Thr Leu Ser Cys Ser Gln Thr Leu Asn His
35 40 45

Asn Val Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Gln Ala Pro Lys Leu
50 55 60

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

Asp Asn Phe Gln Ser Arg Arg Pro Asn Thr Ser Phe Cys Phe Leu Asp
85 90 95

Ile Arg Ser Pro Gly Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Leu Cys Ala Thr
100 105 110

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

Thr Val Thr
130

<210> 24

<211> 272

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 24

ES 2 834 070 T3

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

ES 2 834 070 T3

Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe
195 200 205

Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser
210 215 220

Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn
225 230 235 240

Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu
245 250 255

Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Arg
260 265 270

<210> 25

<211> 310

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 25

Met Gly Pro Gly Leu Leu His Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Thr
1 5 10 15

Gly His Gly Asp Ala Met Val Ile Gln Asn Pro Arg Tyr Gln Val Thr
20 25 30

Gln Phe Gly Lys Pro Val Thr Leu Ser Cys Ser Gln Thr Leu Asn His
35 40 45

Asn Val Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Gln Ala Pro Lys Leu
50 55 60

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

Asp Asn Phe Gln Ser Arg Arg Pro Asn Thr Ser Phe Cys Phe Leu Asp
85 90 95

Ile Arg Ser Pro Gly Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Leu Cys Ala Thr
100 105 110

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

Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val
130 135 140

ES 2 834 070 T3

Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu
145 150 155 160

Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp
165 170 175

Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln
180 185 190

Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser
195 200 205

Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His
210 215 220

Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp
225 230 235 240

Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala
245 250 255

Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly
260 265 270

Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr
275 280 285

Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys
290 295 300

Arg Lys Asp Ser Arg Gly
305 310

<210> 26

<211> 6

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 26

Asp Ser Ala Ser Asn Tyr
1 5

<210> 27

<211> 7

10 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 27

```

Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu
1           5
<210> 28
<211> 10
<212> PRT
5  <213> Homo sapiens
    <400> 28
    Ala Ala Ser Gly Ala Thr Asp Lys Leu Ile
    1           5           10
    <210> 29
    <211> 5
10  <212> PRT
    <213> Homo sapiens
    <400> 29
    Met Gly His Asp Lys
    1           5
    <210> 30
15  <211> 6
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens
    <400> 30
    Ser Tyr Gly Val Asn Ser
    1           5
20  <210> 31
    <211> 9
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens
    <400> 31
    Ala Ser Ser Gly Gly His Glu Gln Tyr
25  1           5
    <210> 32
    <211> 130
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens
30  <400> 32

```

ES 2 834 070 T3

Met Thr Ser Ile Arg Ala Val Phe Ile Phe Leu Trp Leu Gln Leu Asp
1 5 10 15

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

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

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

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

Ile Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile
85 90 95

Thr Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Ser
100 105 110

Gly Ala Thr Asp Lys Leu Ile Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val
115 120 125

Phe Pro
130

<210> 33

<211> 129

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 33

ES 2 834 070 T3

Met Thr Ile Arg Leu Leu Cys Tyr Met Gly Phe Tyr Phe Leu Gly Ala
1 5 10 15

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

Gly Thr Gly Lys Lys Ile Thr Leu Glu Cys Ser Gln Thr Met Gly His
35 40 45

Asp Lys Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Asp Pro Gly Met Glu Leu His Leu
50 55 60

Ile His Tyr Ser Tyr Gly Val Asn Ser Thr Glu Lys Gly Asp Leu Ser
65 70 75 80

Ser Glu Ser Thr Val Ser Arg Ile Arg Thr Glu His Phe Pro Leu Thr
85 90 95

Leu Glu Ser Ala Arg Pro Ser His Thr Ser Gln Tyr Leu Cys Ala Ser
100 105 110

Ser Gly Gly His Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val
115 120 125

Thr

<210> 34

<211> 271

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 34

ES 2 834 070 T3

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

ES 2 834 070 T3

Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn
195 200 205

Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser
210 215 220

Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu
225 230 235 240

Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys
245 250 255

Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265 270

<210> 35

<211> 308

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 35

Met Thr Ile Arg Leu Leu Cys Tyr Met Gly Phe Tyr Phe Leu Gly Ala
1 5 10 15

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

Gly Thr Gly Lys Lys Ile Thr Leu Glu Cys Ser Gln Thr Met Gly His
35 40 45

Asp Lys Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Asp Pro Gly Met Glu Leu His Leu
50 55 60

Ile His Tyr Ser Tyr Gly Val Asn Ser Thr Glu Lys Gly Asp Leu Ser
65 70 75 80

Ser Glu Ser Thr Val Ser Arg Ile Arg Thr Glu His Phe Pro Leu Thr
85 90 95

Leu Glu Ser Ala Arg Pro Ser His Thr Ser Gln Tyr Leu Cys Ala Ser
100 105 110

Ser Gly Gly His Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val
115 120 125

Thr Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu
130 135 140

ES 2 834 070 T3

Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys
145 150 155 160

Leu Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val
165 170 175

Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu
180 185 190

Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg
195 200 205

Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg
210 215 220

Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln
225 230 235 240

Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly
245 250 255

Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu
260 265 270

Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr
275 280 285

Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys
290 295 300

Asp Ser Arg Gly
305

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 36

Thr Ser Glu Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 37

<211> 8

10 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 37

Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn
1 5
<210> 38
<211> 13
5 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 38
Ala Tyr Arg Ser Ala Gln Gly Gly Ser Glu Lys Leu Val
1 5 10
<210> 39
10 <211> 5
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 39
Leu Gly His Asn Ala
1 5
15 <210> 40
<211> 6
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 40
Tyr Ser Leu Glu Glu Arg
20 1 5
<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
25 <400> 41
Ala Ser Ser Gln Thr Thr Tyr Tyr Asn Glu Gln Phe
1 5 10
<210> 42
<211> 137
<212> PRT
30 <213> *Homo sapiens*
<400> 42

ES 2 834 070 T3

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser
20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser
35 40 45

Glu Ser Asp Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Arg Gln
50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr
65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys
100 105 110

Ala Tyr Arg Ser Ala Gln Gly Gly Ser Glu Lys Leu Val Phe Gly Lys
115 120 125

Gly Thr Lys Leu Thr Val Asn Pro Tyr
130 135

<210> 43

<211> 132

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 43

ES 2 834 070 T3

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

Val Pro Met Glu Thr Gly Val Thr Gln Thr Pro Arg His Leu Val Met
20 25 30

Gly Met Thr Asn Lys Lys Ser Leu Lys Cys Glu Gln His Leu Gly His
35 40 45

Asn Ala Met Tyr Trp Tyr Lys Gln Ser Ala Lys Lys Pro Leu Glu Leu
50 55 60

Met Phe Val Tyr Ser Leu Glu Glu Arg Val Glu Asn Asn Ser Val Pro
65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Pro Glu Cys Pro Asn Ser Ser His Leu Phe Leu His
85 90 95

Leu His Thr Leu Gln Pro Glu Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser
100 105 110

Ser Gln Thr Thr Tyr Tyr Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg
115 120 125

Leu Thr Val Leu
130

<210> 44

<211> 277

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 44

ES 2 834 070 T3

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

ES 2 834 070 T3

195

200

205

Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe
210 215 220

Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe
225 230 235 240

Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe
245 250 255

Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu
260 265 270

Arg Leu Trp Ser Ser
275

<210> 45

<211> 311

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 45

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

Val Pro Met Glu Thr Gly Val Thr Gln Thr Pro Arg His Leu Val Met
20 25 30

Gly Met Thr Asn Lys Lys Ser Leu Lys Cys Glu Gln His Leu Gly His
35 40 45

Asn Ala Met Tyr Trp Tyr Lys Gln Ser Ala Lys Lys Pro Leu Glu Leu
50 55 60

Met Phe Val Tyr Ser Leu Glu Glu Arg Val Glu Asn Asn Ser Val Pro
65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Pro Glu Cys Pro Asn Ser Ser His Leu Phe Leu His
85 90 95

Leu His Thr Leu Gln Pro Glu Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser
100 105 110

Ser Gln Thr Thr Tyr Tyr Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro Gly Thr Arg
115 120 125

Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala

ES 2 834 070 T3

130

135

140

Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr
145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser
165 170 175

Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro
180 185 190

Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu
195 200 205

Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn
210 215 220

His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu
225 230 235 240

Trp Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu
245 250 255

Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln
260 265 270

Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala
275 280 285

Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val
290 295 300

Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly
305 310

<210> 46

<211> 1827

<212> ADN

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 46

atgatatacct	tgagagtttt	actggtgatc	ctgtggcttc	agttaagctg	ggtttggagc	60
caacggaagg	aggtaggagca	ggatcctgga	cccttcaatg	ttccagaggg	agccactgtc	120
gctttcaact	gtacttacag	caacagtgtc	tctcagtctt	tcttctggta	cagacaggat	180
tgcaggaaag	aacctaaagt	gctgatgtcc	gtatactcca	gtggtaatga	agatggaagg	240
tttacagcac	agctcaatag	agccagccag	tatatctccc	tgctcatcag	agactccaag	300
ctcagtgtat	cagccaccta	cctctgtgtg	gtgaaccgcg	acaatgacat	gcgctttgga	360
gcagggacca	gactgacagt	aaaaccaa	atccagaacc	ctgaccctgc	cgtgtaccag	420
ctgagagact	ctaaatccag	tgacaagtct	gtctgcctat	tcaccgatat	tgattctcaa	480
acaaatgtgt	cacaaagtaa	ggattctgat	gtgtatatca	cagacaaaac	tgtgctagac	540
atgaggtcta	tggacttcaa	gagcaacagt	gctgtggcct	ggagcaacaa	atctgacttt	600
gcatgtgcaa	acgccttcaa	caacagcatt	attccagaag	acaccttctt	ccccagccca	660
gaaagtctct	gtgatgtcaa	gctggtcgag	aaaagctttg	aaacagatac	gaacctaaac	720
tttcaaaacc	tgtcagtgtg	tgggttccga	atcctcctcc	tgaaagtggc	cgggtttaat	780
ctgctcatga	cgctgcggct	gtggtccagc	cgggccaaag	ggcccgatc	cggagccacc	840
aacttcagcc	tgtgaagca	ggccggcgac	gtggaggaga	accccgcccc	catggcctcc	900
ctgctcttct	tctgtggggc	cttttatctc	ctgggaacag	ggcccatgga	tgtgatgttt	960
accagagccc	caaggaatag	gatcacaaag	acaggaaaga	ggattatgct	ggaatgttct	1020
cagactaagg	gtcatgatag	aatgtactgg	tatcgacaag	accaggact	gggcctacgg	1080
ttgatctatt	actcctttga	tgtcaaagat	ataaacaag	gagagatctc	tgatggatac	1140
agtgtctctc	gacaggcaca	ggctaaattc	tccctgtccc	tagagtctgc	catccccaac	1200
cagacagctc	tttacttctg	tgccaccagt	gagggagggc	cgccctacga	gcagtacttc	1260
gggccgggca	ccaggctcac	ggcacagag	gacctgaaaa	acgtgttccc	acccgaggtc	1320
gctgtgtttg	agccatcaga	agcagagatc	tcccacaccc	aaaaggccac	actggtgtgc	1380
ctggccacag	gcttctaccc	cgaccacgtg	gagctgagct	ggtgggtgaa	tgggaaggag	1440
gtgcacagtg	gggtcagcac	agaccgcgag	cccctcaagg	agcagccgc	cctcaatgac	1500
tccagatact	gcctgagcag	ccgcctgagg	gtctcggcca	ccttctggca	gaacccccgc	1560
aaccacttcc	gctgtcaagt	ccagttctac	gggtctctcg	agaatgacga	gtggaccacg	1620
gatagggcca	aacctgtcac	ccagatcgtc	agcgccgagg	cctggggtag	agcagactgt	1680
ggcttcacct	ccgagtctta	ccagcaaggg	gtcctgtctg	ccaccatcct	ctatgagatc	1740
ttgctagggg	aggccacctt	gtatgccgtg	ctggtcagtg	ccctcgtgct	gatggcyatg	1800
gtcaagagaa	aggattccag	aggctag				1827

<210> 47

<211> 1821

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

5 <400> 47

atgacatcca ttcgagctgt atttatattc ctgtggctgc agctggactt ggtgaatgga 60

gagaatgtgg agcagcatcc ttcaaccctg agtgtccagg agggagacag cgctgttatc 120

aagtgtactt attcagacag tgccctcaaac tacttccctt ggtataagca agaacttgga 180
aaaagacctc agcttattat agacattcgt tcaaagtgtg gcgaaaagaa agaccaacga 240
attgctgtta cattgaacaa gacagccaaa ctttctccc tgcacatcac agagacccaa 300
cctgaagact cggctgtcta cttctgtgca gcaagtgggg ccaccgacaa gctcatcttt 360
gggactggga ccagattaca agtctttcca aatatccaga accctgacct tgccgtgtac 420
cagctgagag actctaaatc cagtgacaag tctgtctgcc tattcaccga ttttgattct 480
caaacaaatg tgtcacaaaag taaggattct gatgtgtata tcacagacaa aactgtgcta 540
gacatgaggt ctatggactt caagagcaac agtgctgtgg cctggagcaa caaatctgac 600
tttgcattgtg caaacgcctt caacaacagc attattccag aagacacctt cttccccagc 660
ccagaaagtt cctgtgatgt caagctgggtc gagaaaagct ttgaaacaga tacgaaccta 720
aactttcaaa acctgtcagt gattgggttc cgaatcctcc tcctgaaagt ggccgggttt 780
aatctgctca tgacgtgctg gctgtggtcc agccggggcca agcgggtccg atccggagcc 840
accaacttca gcctgtgtaa gcaggccggc gacgtggagg agaaccctcg ccccatgact 900
atcaggctcc tctgtacat gggcttttat tttctggggg caggcctcat ggaagctgac 960
atctaccaga cccaagata ccttggtata gggacaggaa agaagatcac tctggaatgt 1020
tctcaaacca tgggccatga caaatgtac tggatatcaac aagatccagg aatggaacta 1080
cacctcatcc actattccta tggagttaat tccacagaga agggagatct ttcctccgag 1140
tcaacagtct ccagaataag gacggagcat tttcccctga ccctggagtc tgccaggccc 1200
tcacatacct ctcagtacct ctgtgccagc agtggcgggc acgagcagta cttcggggccg 1260
ggcaccaggc tcacggtcac agaggacctg aaaaacgtgt tcccaccga ggtcgctgtg 1320
tttgagccat cagaagcaga gatctccac acccaaaagg ccacactggt gtgcctggcc 1380
acaggcttct tccctgacca cgtggagctg agctggtggg tgaatgggaa ggaggtgcac 1440
agtggggtca gcacggacct gcagcccctc aaggagcagc ccgccctcaa tgactccaga 1500
tactgcctga gcagccgctt gagggctctg gccaccttct ggcagaacct ccgcaaccac 1560
ttccgctgtc aagtccagtt ctacgggctc tcggagaatg acgagtggac ccaggatagg 1620
gccaaacctg tcaccagat cgtcagcgcc gaggcctggg gtagagcaga ctgtggcttt 1680
acctcgggtg cctaccagca aggggtcctg tctgccacca tcctctatga gatcctgcta 1740
gggaaggcca ccctgtatgc tgtgctgggtc agcgcccttg tggtgatggc tatggtcaag 1800
agaaaggatt ccagaggcta g 1821

<210> 48

<211> 1830

<212> ADN

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 48

atgatgaaat ccttgagagt tttactggtg atcctgtggc ttcagttaag ctgggtttgg	60
agccaacaga aggaggtgga gcaggatcct ggaccactca gtgttccaga gggagccatt	120
gtttctctca actgcactta cagcaacagt gcttttcaat acttcatgtg gtacagacag	180
tattccagaa aaggccctga gttgctgatg tacacatact ccagtggtaa caaagaagat	240
ggaaggttta cagcacaggt cgataaatcc agcaagtata tctccttggt catcagagac	300
tcacagccca gtgattcagc cacctacctc tgtgcaatgc ggggagccca gaagctggta	360
tttggccaag gaaccaggct gactatcaac ccaaatatcc agaaccctga ccctgccgtg	420
taccagctga gagactctaa atccagtgc aagtctgtct gcctattcac cgattttgat	480
tctcaaacaa atgtgtcaca aagtaaggat tctgatgtgt atatcacaga caaaactgtg	540
ctagacatga ggtctatgga cttcaagagc aacagtgtct tggcctggag caacaaatct	600
gactttgcat gtgcaaacgc cttcaacaac agcattattc cagaagacac cttcttcccc	660
agcccagaaa gttcctgtga tgtcaagctg gtcgagaaaa gctttgaaac agatacgaac	720
ctaaactttc aaaacctgtc agtgattggg ttccgaatcc tcctcctgaa agtggccggg	780
tttaatatgc tcatgacgct gcggctgtgg tccagacggg ccaagcggtc cggatccgga	840
gccaccaact tcagcctgct gaagcaggcc tgcgacgtgg aggagaacct cggcccatg	900
ggtcctgggc ttctccactg gatggccctt tgtctccttg gaacagggtca tggggatgcc	960
atggtcatcc agaacccaag ataccagggt acccagtttg gaaagccagt gaccctgagt	1020
tgttctcaga ctttgaacca taacgtcatg tactgggtacc agcagaagtc aagtcaggcc	1080
ccaaagctgc tgttccacta ctatgacaaa gattttaaca atgaagcaga caccctgat	1140
aacttccaat ccaggaggcc gaacacttct ttctgctttc ttgacatccg ctcaccaggc	1200
ctgggggacg cagccatgta cctgtgtgcc acctcctggg accgagggtg cgagcagtac	1260
ttcggggccg gcaccaggct cacggtcaca gaggacctga aaaacgtgtt cccacccgag	1320
gtcgtgtgtt ttgagccatc agaagcagag atctcccaca cccaaaaggc cactactggtg	1380
tgcctggcca caggcttcta ccccgaccac gtggagctga gctgggtgggt gaatgggaag	1440
gaggtgcaca gtgggggtcag cacagacctg cagccctca aggagcagcc cgccctcaat	1500
gactccagat actgcctgag cagccgcctg agggctctcg ccaccttctg gcagaacccc	1560
cgcaaccact tccgctgtca agtccagttc tacgggctct cggagaatga cgagtggacc	1620
caggataggg ccaaacctgt caccagatc gtcagcgccg aggcctgggg tagagcagac	1680
tgtggcttca cctccgagtc ttaccagcaa ggggtcctgt ctgccaccat cctctatgag	1740
atcttgctag ggaaggccac cttgtatgcc gtgctgggtc gtgccctcgt gctgatggct	1800
atggtcaaga gaaaggattc cagaggctag	1830

<210> 49

<211> 1848

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

5 <400> 49

atggcatgcc	ctggcttcct	gtgggcactt	gtgatctcca	cctgtcttga	atttagcatg	60
gctcagacag	tcactcagtc	tcaaccagag	atgtctgtgc	aggaggcaga	gaccgtgacc	120
ctgagctgca	catatgacac	cagtgagagt	gattattatt	tattctggta	caagcagcct	180
cccagcaggc	agatgattct	cgttattcgc	caagaagctt	ataagcaaca	gaatgcaaca	240
gagaatcggt	tctctgtgaa	cttccagaaa	gcagccaaat	ccttcagtct	caagatctca	300
gactcacagc	tgggggatgc	cgcgatgtat	ttctgtgctt	ataggagcgc	tcagggcgga	360
tctgaaaagc	tggctcttgg	aaagggaaag	aaactgacag	taaaccata	tatccagaac	420
cctgaccctg	ccgtgtacca	gctgagagac	tctaaatcca	gtgacaagtc	tgtctgccta	480
ttcaccgatt	ttgattctca	aacaaatgtg	tcacaaagta	aggattctga	tgtgtatatc	540
acagacaaaa	ctgtgctaga	catgaggtct	atggacttca	agagcaacag	tgctgtggcc	600
tggagcaaca	aatctgactt	tgcattgtgc	aacgccttca	acaacagcat	tattccagaa	660
gacaccttct	tccccagccc	agaaagttcc	tgtgatgtca	agctggtcga	gaaaagcttt	720
gaaacagata	cgaacctaaa	ctttcaaaac	ctgtcagtga	ttgggttccg	aatcctctc	780
ctgaaagtgg	ccgggtttaa	tctgctcatg	acgctgcggc	tgtgggtccag	ccgggccaaag	840
cggtccggat	ccggagccac	caacttcagc	ctgctgaagc	aggccggcga	cgtggaggag	900
aaccccggcc	ccatgggctg	caggctgctc	tgctgtgcgg	ttctctgtct	cctgggagcg	960
gtcccatgg	aaacgggagt	tacgcagaca	ccaagacacc	tggcatggg	aatgacaaat	1020
aagaagtctt	tgaatgtga	acaacatctg	ggtcataacg	ctatgtattg	gtacaagcaa	1080
agtgctaaga	agccactgga	gctcatgttt	gtctacagtc	ttgaagaacg	ggttgaaaac	1140
aacagtgtgc	caagtcgctt	ctcaccggaa	tgccccaaca	gctctcactt	attccttcac	1200
ctacacaccc	tgagccaga	agactcggcc	ctgtatctct	gcgccagcag	ccaaactact	1260
tactacaatg	agcagttctt	cgggccaggg	acacggctca	ccgtgctaga	ggacctgaaa	1320
aacgtgttcc	cacccgaggt	cgctgtgttt	gagccatcag	aagcagagat	ctccacacc	1380
caaaaggcca	cactggtgtg	cctggccaca	ggcttctacc	ccgaccacgt	ggagctgagc	1440
tgggtgggtga	atgggaagga	ggtgcacagt	ggggtcagca	cagaccgcga	gcccctcaag	1500
gagcagcccg	ccctcaatga	ctccagatac	tgcttgagca	gccgcctgag	ggtctcggcc	1560
accttctggc	agaacccccg	caaccacttc	cgctgtcaag	tccagttcta	cggtctctcg	1620
gagaatgacg	agtggaccca	ggatagggcc	aaacccgtca	cccagatcgt	cagcgccgag	1680

gcctggggta gagcagactg tggcttcacc tccgagtctt accagcaagg ggtcctgtct 1740
gccaccatcc tctatgagat cttgctaggg aaggccacct tgtatgccgt gctgggtcagt 1800
gccctcgtgc tgatggccat ggtcaagaga aaggattcca gaggctag 1848
<210> 50
<211> 9
<212> PRT
5 <213> *Homo sapiens*
<400> 50
Val Pro Ile Ser His Leu Tyr Ile Leu
1 5
<210> 51
<211> 9
10 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 51
Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr Ile Phe
1 5
<210> 52
15 <211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 52
Asp Pro Ile Gly His Val Tyr Ile Phe
1 5
20 <210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 53
Glu Asp Gly Cys Pro Ala Ala Glu Lys
25 1 5
<210> 54
<211> 27
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
30 <220>
<223> Sintética

<400> 54

Arg Ala Lys Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
1 5 10 15

Gln Ala Cys Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 55

5 <211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

10 <400> 55

cactgttgct cttgaagtcc

20

<210> 56

<211> 24

<212> ADN

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

<400> 56

caggcagtat ctggagtcac tgag

24

20 <210> 57

<211> 4

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Sintética

<400> 57

Ser Gly Ser Gly

1

<210> 58

<211> 27

30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

	<400> 58	
	tgcaaggcat ggaaaataca taactga	27
	<210> 59	
	<211> 25	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintética	
	<400> 59	
10	cacagatatc ctgtttggcc catat	25
	<210> 60	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Sintética	
	<400> 60	
	tctctctggt cctaaccttg	20
	<210> 61	
20	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintética	
25	<400> 61	
	tccgtgagga ggcaaggttc	20
	<210> 62	
	<211> 19	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Sintética	
	<400> 62	
	gagcctgcgc acccaccaa	19
35	<210> 63	
	<211> 28	

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintética

5 <400> 63

agtgtgggca ggagctagtg ctgctccg

28

REIVINDICACIONES

1. Un receptor de células T (TCR) aislado o purificado que tiene especificidad antigénica por MAGE-A12 en el contexto de HLA-Cw7,
en el que el TCR comprende
- 5 (a) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 26-31, o (b) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 36-41.
2. El TCR aislado o purificado según la reivindicación 1, en el que el TCR comprende
- (I) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 32-33, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 42-43; o
- 10 (II) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 34-35, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 44-45.
3. El TCR aislado o purificado según la reivindicación 1 o 2, que tiene especificidad antigénica por un epítipo MAGE-A12 que comprende VRIGHLYIL (SEQ ID NO: 4).
4. Un polipéptido aislado o purificado que comprende una porción funcional del TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la porción funcional comprende:
- 15 (I) (a) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 26-31, o (b) las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 36-41;
- (II) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 32-33, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 42-43; o
- 20 (III) (a) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 34-35, o (b) las secuencias de aminoácidos de ambas de SEQ ID NO: 44-45.
5. Una proteína aislada o purificada que comprende al menos uno de los polipéptidos según la reivindicación 4.
6. Una proteína aislada o purificada, que comprende
- 25 (I) (a) una primera cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 26-28 y una segunda cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 29-31; o
- (b) una primera cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las SEQ ID NO: 36-38 y una segunda cadena polipeptídica que comprende las secuencias de aminoácidos de todas las
- 30 SEQ ID NO: 39-41,
- (II) (a) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33; o
- (b) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43; o
- 35 (III) (a) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35; o
- (b) una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 y una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45,
- opcionalmente en la que la proteína es:
- 40 (i) una proteína de fusión, y/o
- (ii) un anticuerpo recombinante.
7. Un ácido nucleico aislado o purificado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para el TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, el polipéptido según la reivindicación 4 o la proteína según la reivindicación 5 o 6,
- 45 opcionalmente en el que el ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 47 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 49.

8. Un ácido nucleico aislado o purificado que comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos del ácido nucleico según la reivindicación 7.
9. Un vector de expresión recombinante que comprende el ácido nucleico según la reivindicación 7 u 8.
10. Una célula huésped aislada que comprende el vector de expresión recombinante según la reivindicación 9, opcionalmente en la que la célula es:
 - (a) un linfocito de sangre periférica (PBL), opcionalmente en la que el PBL es una célula T; o
 - (b) un linfocito infiltrante de tumores (TIL).
11. Una población de células que comprende al menos una célula huésped según la reivindicación 10.
12. Un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a una porción funcional del TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la porción funcional comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 26-31 o las SEQ ID NO: 36-41.
13. Una composición farmacéutica que comprende el TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, el polipéptido según la reivindicación 4, la proteína según la reivindicación 5 o 6, el ácido nucleico según la reivindicación 7 u 8, el vector de expresión recombinante según la reivindicación 9, la célula huésped según la reivindicación 10, la población de células según la reivindicación 11, o el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 12, y un portador farmacéuticamente aceptable.
14. Un método de detección de la presencia de cáncer en un huésped, que comprende:
 - (i) poner en contacto una muestra que comprende células del cáncer con el TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, el polipéptido según la reivindicación 4, la proteína según la reivindicación 5 o 6, el ácido nucleico según la reivindicación 7 u 8, el vector de expresión recombinante según la reivindicación 9, la célula huésped según la reivindicación 10, la población de células según la reivindicación 11, o el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 12, formando de este modo un complejo, y
 - (ii) detectar el complejo,en el que la detección del complejo es indicativa de la presencia de cáncer en el huésped, opcionalmente en el que:
 - (a) el cáncer es melanoma, cáncer de mama, leucemia, cáncer de tiroides, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, mieloma múltiple, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cánceres de cabeza, cánceres de cuello, cáncer de próstata o cáncer urotelial; y/o
 - (b) la célula huésped y las células de la población son autólogas con respecto al huésped.
15. El TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, el polipéptido según la reivindicación 4, la proteína según la reivindicación 5 o 6, el ácido nucleico según la reivindicación 7 u 8, el vector de expresión recombinante según la reivindicación 9, la célula huésped según la reivindicación 10, la población de células según la reivindicación 11, el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 12, o la composición farmacéutica según la reivindicación 13, para su uso en el tratamiento o la prevención del cáncer en un huésped, opcionalmente en el que:
 - (a) el cáncer es melanoma, cáncer de mama, leucemia, cáncer de tiroides, cáncer gástrico, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, mieloma múltiple, cáncer de esófago, cáncer de riñón, cánceres de cabeza, cánceres de cuello, cáncer de próstata o cáncer urotelial; y/o
 - (b) la célula huésped y las células de la población son autólogas con respecto al huésped.

FIG. 1A

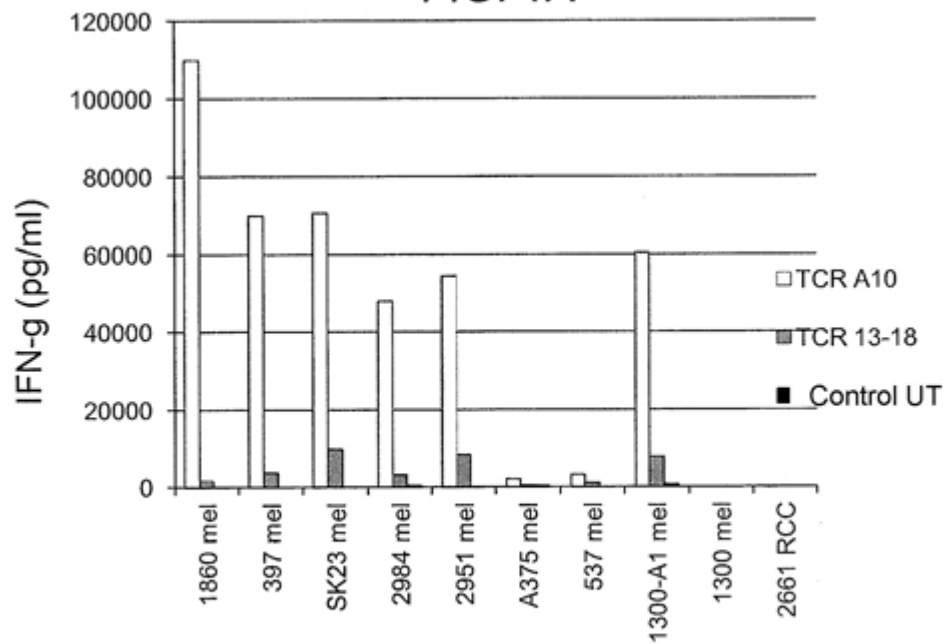


FIG. 1B

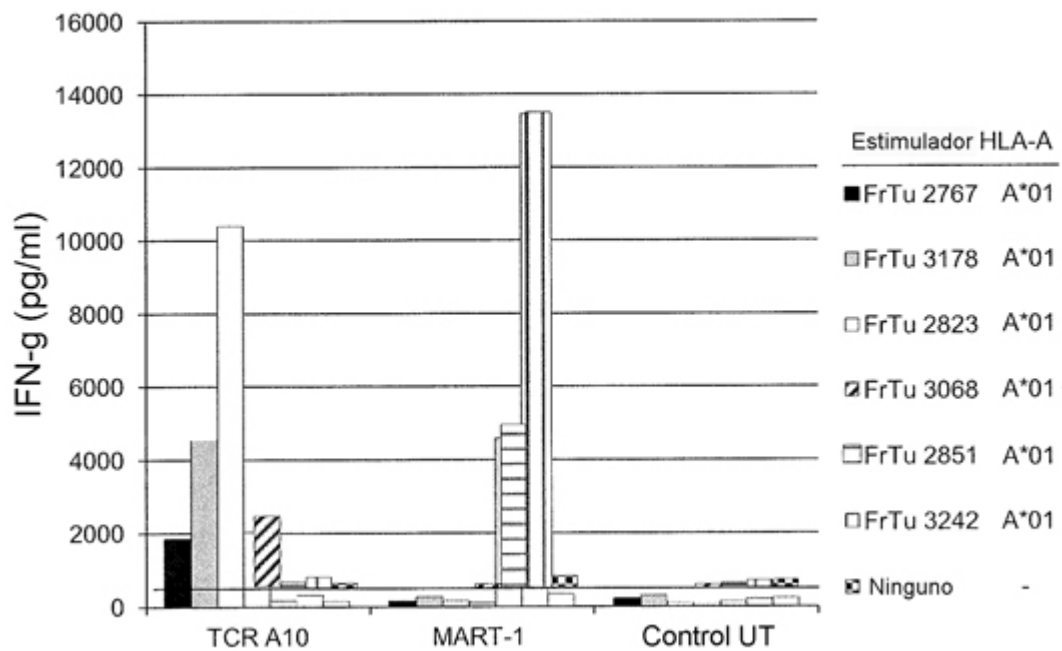


FIG. 2A

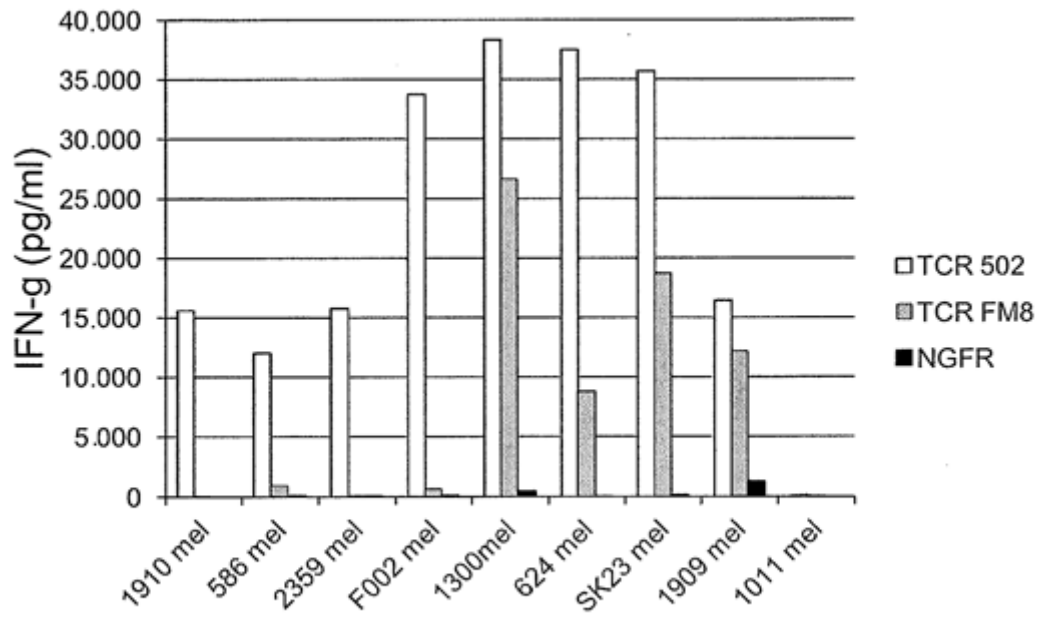


FIG. 2B

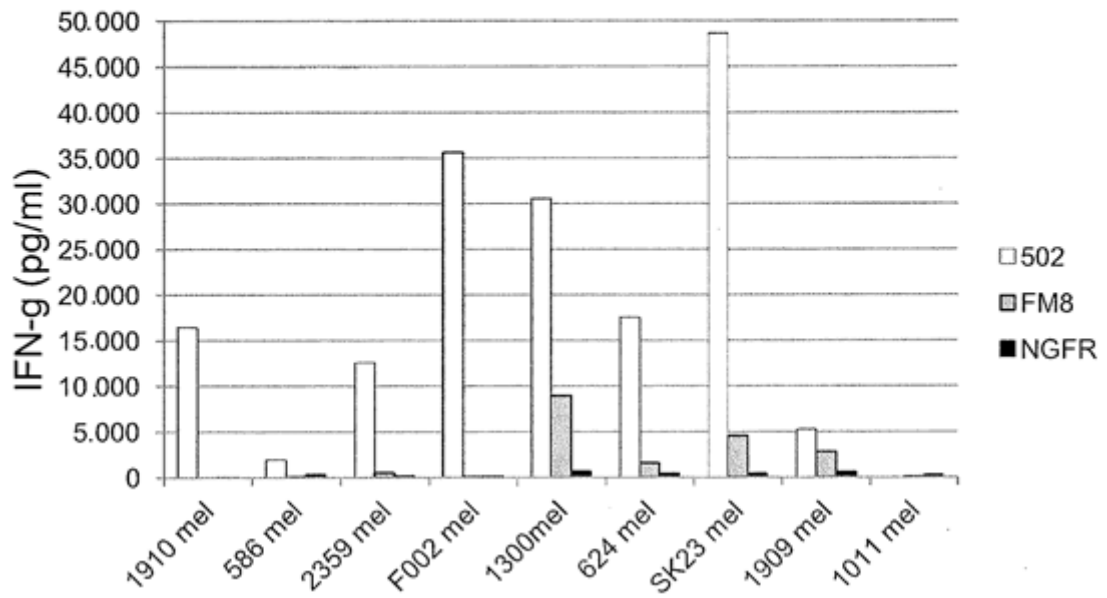


FIG. 3

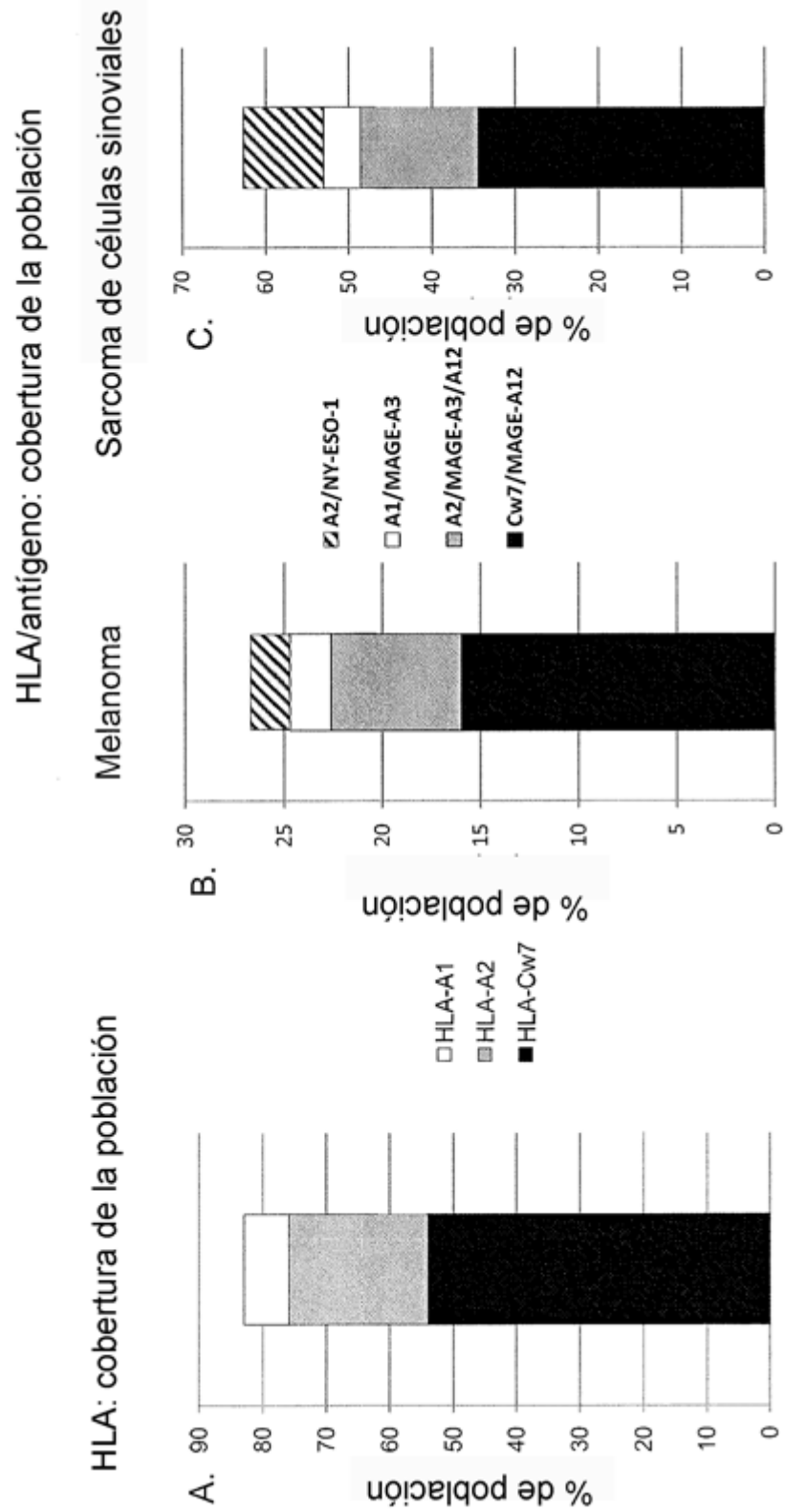


FIG. 4

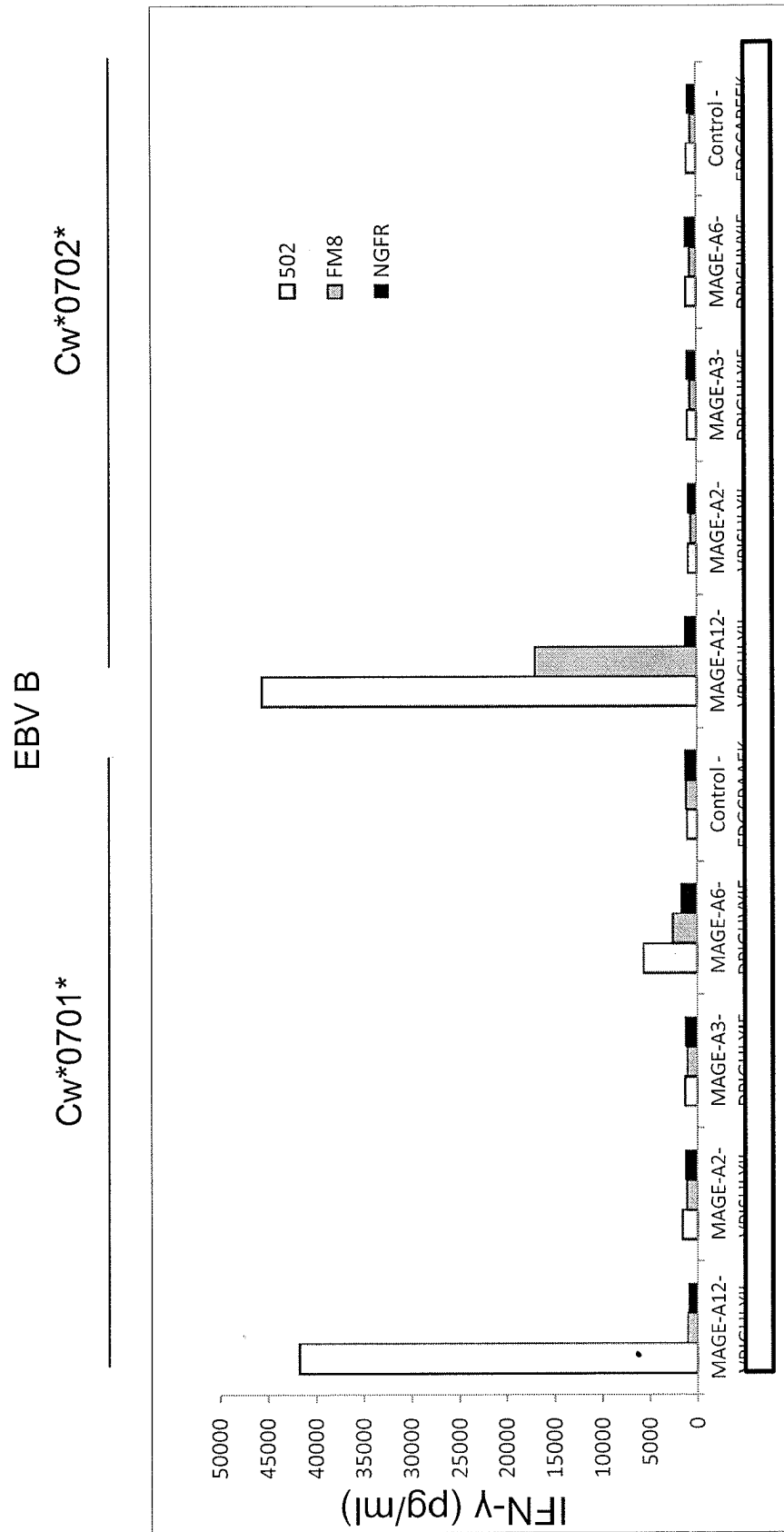
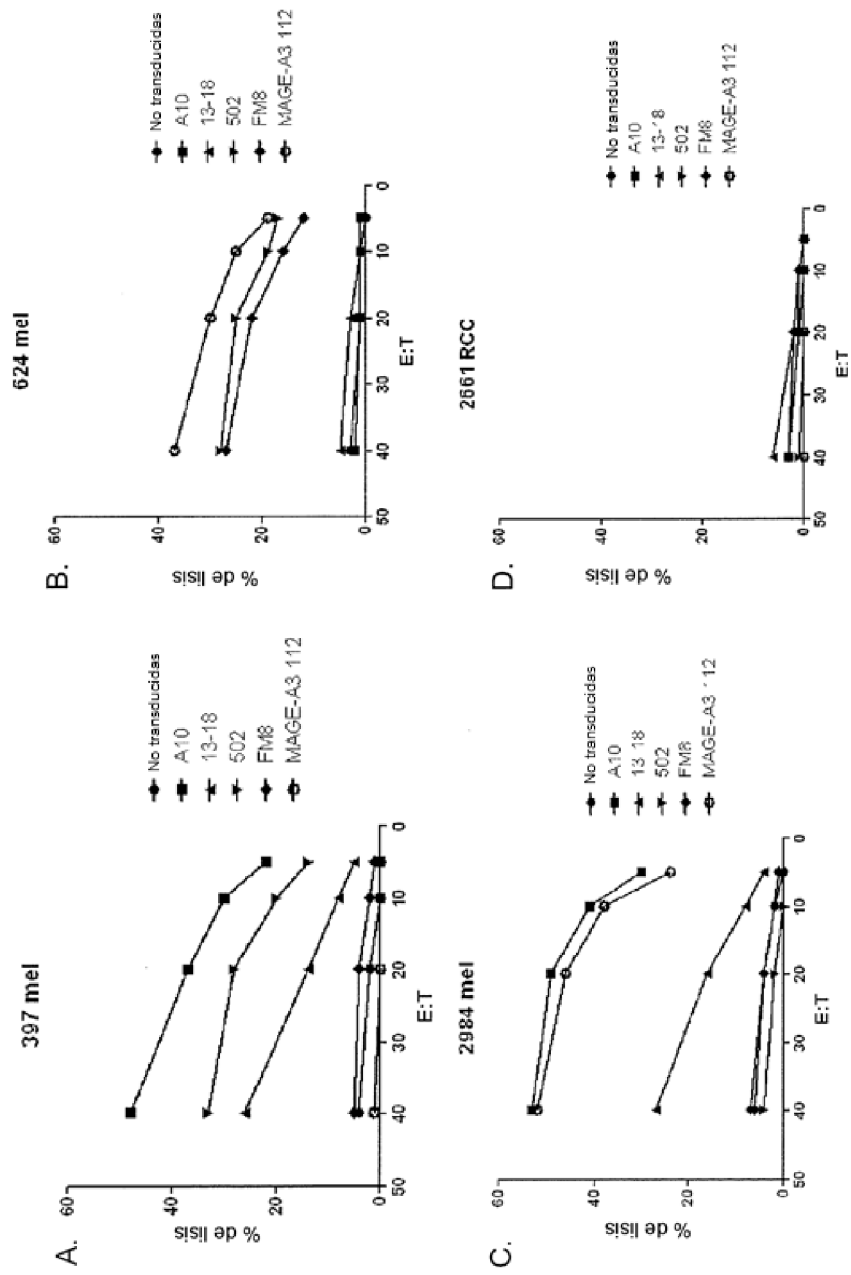


FIG. 5



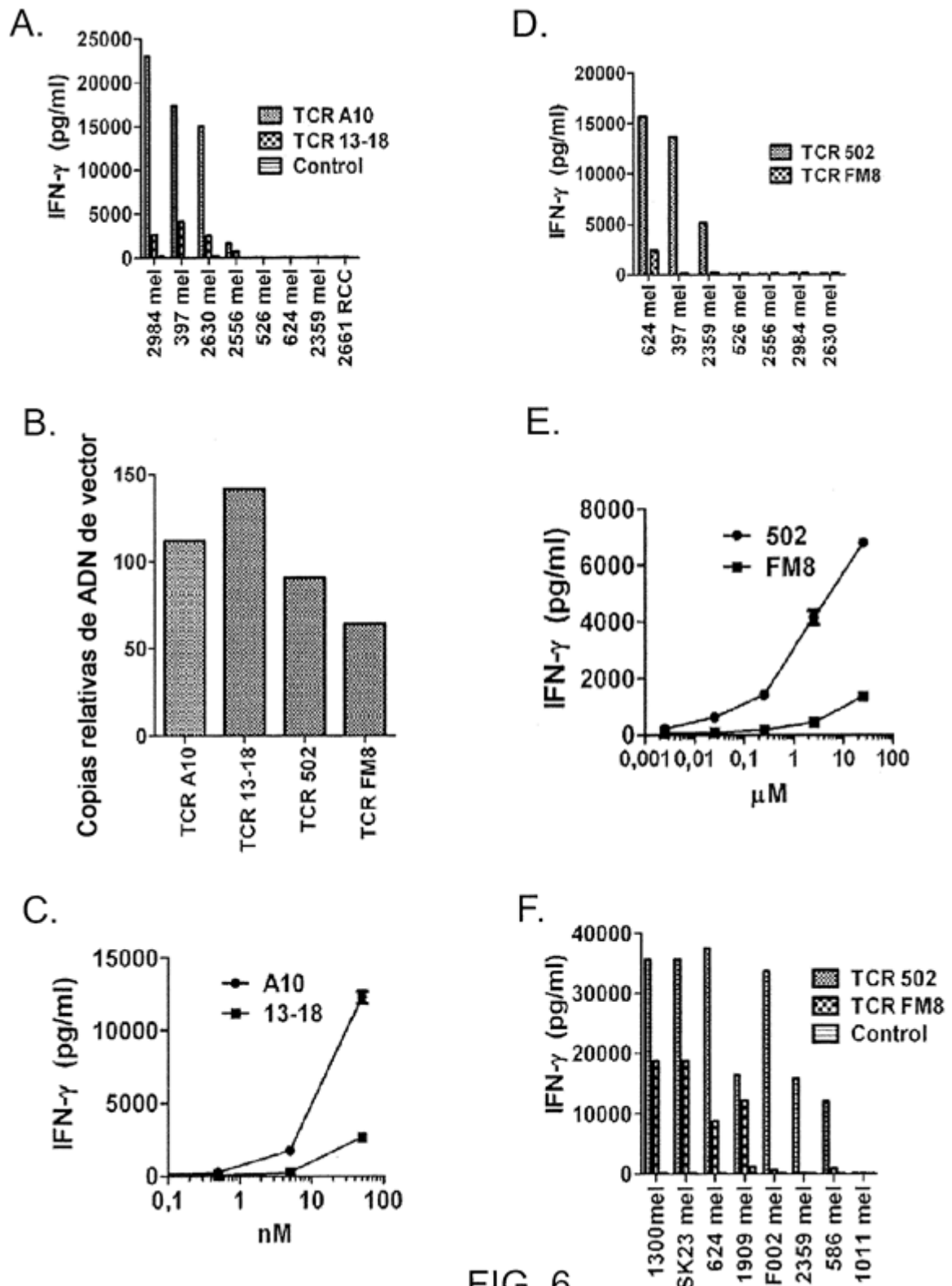
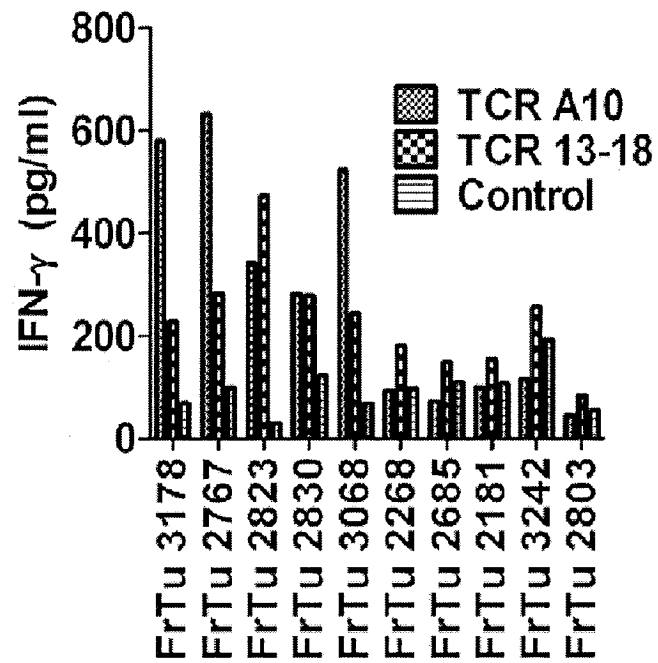


FIG. 6

A.



B.

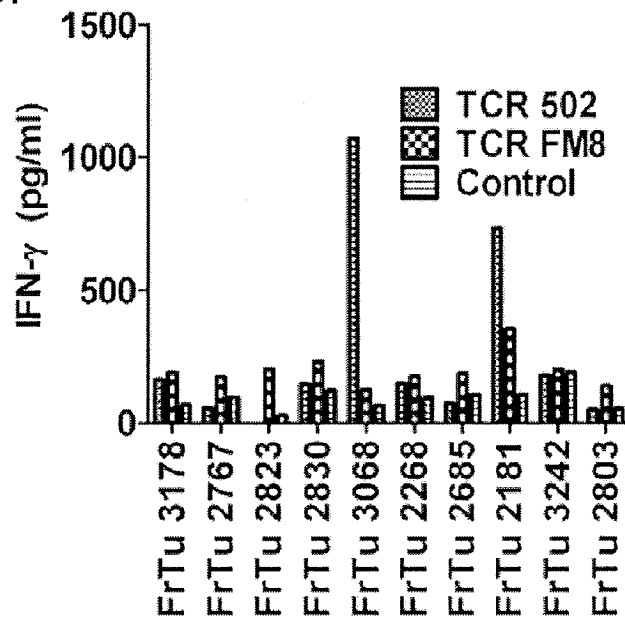


FIG. 7

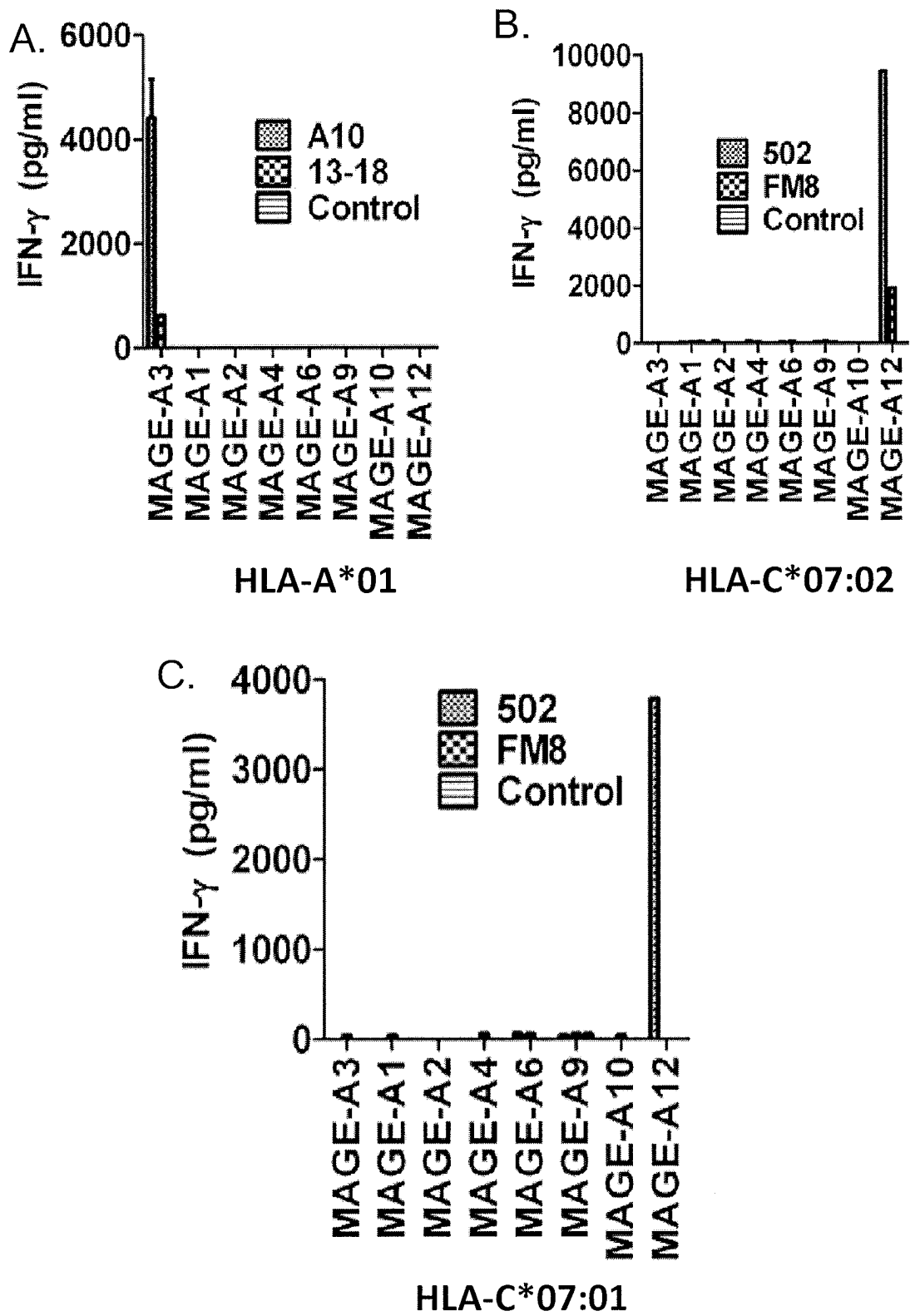


FIG. 8

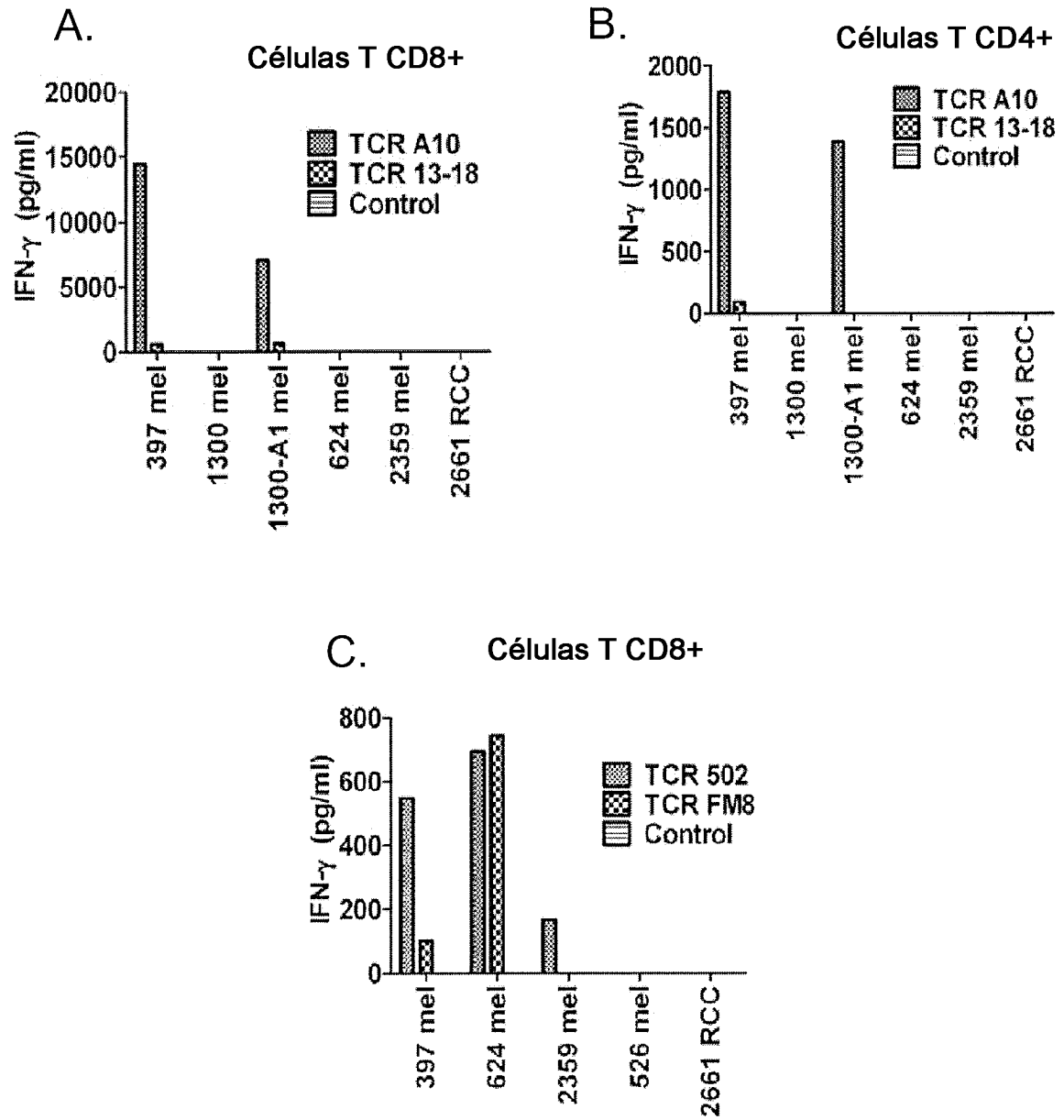


FIG. 9