

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 833 162**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 14/725 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2015** **PCT/EP2015/066252**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.01.2016** **WO16008973**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2015** **E 15738356 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **13.12.2023** **EP 3169703**

54 Título: **Receptor de antígeno quimérico y su uso**

30 Prioridad:

16.07.2014 EP 14177278

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente modificada:
12.06.2024

73 Titular/es:

ABKEN, HINRICH (50.0%)
Gotthard-Bauer-Str. 1
94333 Geiselhöring-Hainsbach, DE y
HOMBACH, ANDREAS (50.0%)

72 Inventor/es:

ABKEN, HINRICH y
HOMBACH, ANDREAS

74 Agente/Representante:

LOZANO GANDIA, José

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 833 162 T5

DESCRIPCIÓN

Receptor de antígeno quimérico y su uso

- 5 En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un polipéptido recombinante que contiene un dominio que comprende al menos dos unidades de anticuerpo, mediante lo cual una unidad de anticuerpo es una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla mientras que otra unidad de anticuerpo es una unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada según la reivindicación 1 o la reivindicación 2. En particular, la presente invención se refiere a un polipéptido recombinante que contiene al menos los siguientes dominios comenzando desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal: un primer dominio que contiene una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 y una unidad de anticuerpo, siendo dicha unidad de anticuerpo específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada, concretamente, siendo específica de un antígeno asociado a tumor; opcionalmente, un dominio espaciador; un dominio transmembrana; y un dominio de señalización citoplásmica. Del mismo modo, el polipéptido recombinante puede estar dispuesto en orden, en el que el dominio que comprende al menos dos unidades de anticuerpo tiene el orden: un primer dominio que contiene una unidad de anticuerpo específica de un antígeno asociado a tumor y el segundo dominio que contiene una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla. En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una molécula de ácido nucleico que codifica para el polipéptido según la presente invención, así como a vectores y a células que contienen los mismos. Además, se proporcionan células T aisladas, como una célula T CD8⁺ o CD4⁺, que expresan en su superficie receptores de antígeno quiméricos que contienen una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla y una unidad de anticuerpo, mediante lo cual dicha unidad de anticuerpo es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada.
- 25 Estas células son particularmente útiles en el tratamiento de cáncer, en particular cáncer CD30⁺. Es decir, las células son para su uso en terapia celular adoptiva para tratar cáncer en un sujeto que lo necesita.

Técnica anterior

- 30 La transferencia adoptiva de células T ha demostrado una eficacia significativa en el tratamiento de tumores malignos y puede ser curativa en pacientes con diversas enfermedades, incluyendo leucemia o tumores malignos asociados al virus de Epstein Barr. Normalmente, las células T derivadas del paciente se modifican por ingeniería *ex vivo* para expresar un receptor de células T recombinante o, alternativamente, un receptor de antígeno quimérico. Dicho receptor de antígeno quimérico (CAR, *Chimeric Antigen Receptor*) se compone normalmente de un dominio de unión a antígeno extracelular derivado de un anticuerpo y un dominio de activación de células T intracelular derivado del endodominio del receptor de células T. A diferencia del TCR fisiológico, el CAR se compone de una sola cadena de polipéptido que combina la unión del antígeno a través del resto extracelular con una maquinaria de activación de células T proporcionada por el resto de señalización intracelular. Por tanto, debido al dominio de unión derivado del anticuerpo, las células T modificadas con CAR reconocen su diana, normalmente, un antígeno de superficie celular, independientemente de la presentación de antígeno del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), y no se ven comprometidas por variantes de células tumorales con posesión reducida o deficiente de antígeno, que representa un mecanismo observado comúnmente del escape inmunitario tumoral. Los CAR se encuentran en el foco de investigación en los últimos años. En particular, su capacidad para dirigir y lisar células predefinidas se encuentra en el foco de la inmunoterapia. Ensayos clínicos recientes han destacado el potencial de la terapia adaptativa de cáncer con células T redirigidas con CAR. Por ejemplo, los pacientes con neuroblastoma tratados con células T de CAR específicas de gangliósido GD2 mostraron algunos efectos antitumorales alentadores, aunque las células T persisten sólo durante un breve periodo. Estudios adicionales probaron el concepto de que las células T modificadas por ingeniería con CAR pueden iniciar una respuesta antitumoral productiva en pacientes que padecen diversos tumores malignos. El enfoque con CAR difiere de otras estrategias de terapia inmunitaria mediada por anticuerpos, por ejemplo, usando inmunotoxinas, en la medida en que se usan células modificadas por ingeniería en lugar de moléculas individuales.

- En los últimos años, se han realizado esfuerzos en la optimización del diseño de CAR, véase, por ejemplo, Bridgeman J.S., *et al.*, Curr Gene Ther 2010, 10, 77-90. Sin embargo, sigue habiendo muchos desafíos, en particular, la necesidad de una respuesta antitumoral más efectiva y la prolongación de la supervivencia de células T que permita una persistencia a largo plazo de las células T de dichas células T modificadas por ingeniería en el cuerpo. Además, las señales coestimuladoras requeridas para una aplicación clínica con éxito siguen siendo ilusorias, por ejemplo, véase Hombach A, *et al.*, Curr Mol Med. Agosto de 2013; 13(7):1079-88. Así, existe trabajo en curso sobre la optimización de CAR para diversos enfoques, incluyendo la inmunoterapia adaptativa.

- 60 Hombach A., *et al.*, Gene Therapy, 2010, 17, 1206-1213 describen la modificación del dominio espaciador de IgG1-Fc en el resto extracelular de receptores de antígeno quiméricos para evitar la activación fuera de la diana y el inicio imprevisto de una respuesta inmunitaria innata. En ese documento, se han usado células T modificadas por ingeniería con CAR modificado, o bien un CAR anti-CD30 o bien un CAR anti-CEA. Tal como se demostró en ese documento, las células T de CAR anti-CEA no son eficaces contra células negativas para CEA ni las células T de CAR anti-CD30 contra células CD30⁺. La modificación dada a conocer en esta publicación se refiere a evitar la

activación de la diana por el inicio imprevisto de la respuesta inmunitaria, por ejemplo, debido a la reactividad cruzada con un dominio espaciador en el resto extracelular del CAR.

En Kofler *et al.*, 2011, Mol. Ther. 19, 760-767 se describe una molécula de CAR que tiene un endodominio de CD28 combinado con un endodominio de CD3 y un ectodominio de scFv derivado de anticuerpo específico de CEA. En ese documento se describe que una delección del resto de unión Ick en el endodominio de CAR de CD28 mejora la actividad antitumoral redirigida en presencia de células T reguladoras sin alterar la secreción, la proliferación y la citólisis de interferón-gamma. Se especula que el CAR con el endodominio de CD28 modificado facilita la implementación de la terapia adoptiva con células T en pacientes con una variedad de tipos de cáncer que están muy infiltrados por células T reguladoras (células Treg).

Se proporciona un resumen del presente conocimiento sobre células T redirigidas con receptores de antígeno quiméricos en el artículo de revisión de Chmielewski M., *et al.*, Frontiers in immunology, 2013, 4, 1-7, así como en Melenhorst JJ, Levine BL., Cytotherapy. Septiembre de 2013; 15(9):1046-53. Además, se proporciona un resumen de terapia adoptiva de cáncer con células T redirigidas con CAR en Hombach A., *et al.*, Curr Mol Med, 2013, 13(1), 1-10. En ese documento, se resumen los efectos de CAR, incluyendo la actividad de coestimulación así como la mejora y la prolongación de la respuesta antitumoral redirigida de las células T. Además, se describen los efectos adversos de esta clase de terapia adaptativa, incluyendo la "tormenta de citocinas" y la "represión de células T".

Recientemente, Chmielewski *et al.*, Immunol Reviews vol. 257, 2014, p83-90 comentan la posibilidad de que las células T de CAR modificadas por ingeniería con una citocina inducible modulan el estroma tumoral.

Wilkie, S. *et al.*, J. Clin. Immunol., 2012, 32, 1059-1070 describen un doble direccionamiento de ErbB2 y MUC1 en cáncer de mama usando dos CAR independientes, cada uno capaz de la activación completa de células T. Kloss *et al.*, Nat Biotechnol. Enero de 2013; 31(1):71-5 notifican células T modificadas por ingeniería con dos CAR independientes que proporcionan señalización complementaria. Los vectores descritos en ese documento codifican para dos moléculas de CAR independientes expresadas simultáneamente por las propias células T.

Grada, Z. *et al.*, Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2013, vol. 2, página 105 se refieren a TanCAR, un novedoso CAR biespecífico para la inmunoterapia contra el cáncer. Las moléculas de CAR descritas en ese documento están diseñadas para identificar ligandos, estando presentes ambas en la célula diana.

Es decir, las células T modificadas con receptores de antígeno quiméricos (CAR) usadas en la actualidad para el direccionamiento redirigido por antígenos hacia células tumorales muestran un rendimiento insuficiente en el ataque antitumoral debido a diversos motivos, en particular, debido a una amplificación y una actividad citolítica menores después de la transferencia adoptiva al paciente. Así, el mayor obstáculo de la estrategia para su uso clínico es el rendimiento insuficiente de las células T modificadas por ingeniería a largo plazo.

Además, aparte del efecto beneficioso de las células T que expresan CAR en la terapia adoptiva, se conocen efectos de sobra que actualmente dificultan el desarrollo favorito de la terapia respectiva tal como se mencionó anteriormente.

Breve descripción de la presente invención

La presente invención tiene como objetivo mejorar la persistencia y el rendimiento de células T de CAR.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un polipéptido recombinante, tal como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que contiene al menos los siguientes dominios comenzando desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal: un primer dominio que contiene una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 y una unidad de anticuerpo, siendo dicha unidad de anticuerpo específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada que es específica de un antígeno asociado a tumor; opcionalmente, un dominio espaciador; un dominio transmembrana; y un dominio de señalización citoplásmica. En particular, la presente invención se refiere a un péptido recombinante en el que el primer dominio comprende la unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla en combinación con una unidad de anticuerpo, mediante lo cual esta unidad de anticuerpo es específica de un antígeno asociado a tumor. La unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla es el HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2, mientras que la unidad de anticuerpo es una unidad que se une al antígeno asociado a tumor del antígeno carcinoembrionario (CEA), en particular de SEQ ID NO: 4. En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una molécula de ácido nucleico que codifica para el polipéptido según la presente invención, así como a un vector que comprende dicha secuencia de ácido nucleico. Además, se proporciona una célula aislada, una línea de células o una célula huésped que contiene dicha secuencia de ácido nucleico o dicho vector.

Además, la presente invención se refiere a una célula T aislada, como una célula T CD8⁺ y/o CD4⁺, que expresa en su superficie receptores de antígeno quiméricos que tienen en su dominio extracelular dos unidades de anticuerpo, una unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada y una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla, tal como se define en las

reivindicaciones. Estas unidades están o bien presentes en un único polipéptido, tal como se define en el presente documento, o bien presentes en receptores de antígeno quiméricos funcionales diferentes. Estas células son particularmente útiles para tratar células tumorales que expresan el antígeno en su superficie pero que no pueden expresar CD30 en su superficie. Es decir, combinando estas dos unidades, concretamente, la unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla y un dominio de anticuerpo que es específico de un antígeno asociado a tumor, pueden tratarse de manera más eficaz células tumorales que expresan el antígeno específico de tumor en su superficie pero que son CD30⁻. Así, en el presente documento, se describe un método para tratar sujetos que padecen cáncer, mediante lo cual las células tumorales de dicho cáncer expresan el antígeno pero son CD30⁻ (negativas para CD30).

En particular, las células útiles para la terapia adoptiva con células según la presente invención expresan en su superficie receptores de antígeno quiméricos que tienen en el dominio extracelular la unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula predeterminada, en particular, en los que la unidad de anticuerpo es una unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno asociado a tumor, y una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla, mediante lo cual estas dos unidades pueden estar presentes o bien en un único polipéptido que representa un CAR o bien pueden estar presentes en receptores de antígeno quiméricos funcionales diferentes.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: representación esquemática de la composición modular de las moléculas de CAR. El n.º 1138 representa el CAR anti-CD30; el n.º 946 representa el CAR anti-CEA. El CAR n.º 1457 es la molécula de CAR biespecífica según la presente invención que se compone del anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv, el scFv anti-CEA BW431/26, el dominio espaciador de IgG1-Fc, el dominio transmembrana de CD28 y el dominio de señalización citoplásmica de la cadena CD28ΔLCK y CD3zeta.

Figura 2: se modificaron por ingeniería linfocitos de sangre periférica con CAR mediante procedimientos convencionales. Después del cultivo, se analizaron las células CD3⁺ para determinar la expresión de CAR utilizando los anticuerpos anti-CD3 conjugados con FITC y anti-IgG1-Fc humanos conjugados con PE. Tal como se demostró, se llevó a cabo con éxito la transducción, y las células T expresan el CAR anti-CD30/CEA en la superficie celular en cantidades similares a las células T transducidas con el CAR anti-CD30 y anti-CEA, respectivamente.

Figura 3: se modificaron por ingeniería células T humanas con CAR, tal como se indica, con una tasa de expresión inicial de CAR de CAR anti-CEA: 22,2%; CAR anti-CD30: 28,9%; CAR anti-CEA/CD30: 22,8%. Se cultivaron las células T de CAR 300 horas en presencia de IL-2 y se monitorizaron las células que expresaban CAR. Las células T de CAR con un dominio de unión a CD30 se expanden de manera más eficaz que las células T con sólo el CAR anti-CEA.

Figura 4: células T humanas modificadas por ingeniería que expresan diferentes clases de CAR, tal como se indica (expresión inicial de CAR: CAR anti-CEA: 8,5%; CAR anti-CD30: 9,39%; CAR anti-CEA/CD30: 8,2%). Se incubaron conjuntamente células T de CAR (0,625-5x10⁴ células/pocillo) durante 24 horas con células tumorales (2,5-5x10⁴ células/pocillo), tal como se indica. Se usaron tres tipos diferentes de líneas de células que eran o bien positivas para CEA o bien para CD30, o control negativo tanto para CEA como para CD30. La línea de células que era negativa tanto para CEA como para CD30 no se lisó, mientras que se observó lisis específica de células LS174T, que es una línea de células CEA⁺/CD30⁻. En estas, las células T de CAR anti-CEA/CD30 demuestran una mayor lisis específica en comparación con las células T de CAR anti-CEA.

Figura 5: se muestra la liberación de interferón-gamma, un marcador para la activación de células T, durante el cultivo conjunto de diferentes números de células efectoras con las células tumorales. Después de 24 horas de cultivo conjunto, se recogieron los sobrenadantes y se analizaron para determinar interferón-gamma mediante ELISA. Se realizó el ensayo por triplicado y se determinó la DE. Tal como se muestra, las células T de CAR anti-CEA/CD30 produjeron IFN-gamma cuando se incubaron conjuntamente con las células LS174T CEA⁺/CD30⁻, así como con las células CEA⁺ CD30⁺. No se produjo IFN-gamma tras la incubación conjunta con células Colo320 CEA⁻ CD30⁻. Las células T con el CAR anti-CEA o el CAR anti-CD30 liberaron IFN-gamma sólo tras la incubación conjunta con células CEA⁺ o CD30⁺, respectivamente.

Figura 6: la figura 6 muestra la actividad citolítica de células T CIK de CAR (células citolíticas inducidas por citocinas con fenotipo de células T NK). Se demuestra que se logra la destrucción potenciada de células diana CEA⁺ CD30⁻ usando las células T CIK de CAR anti-CEA/CD30. Las líneas de células tumorales son las mismas que las descritas en la figura 2.

Figura 7: la figura 7 demuestra la destrucción *in vivo* mejorada de células tumorales CEA⁺ mediante células T de CAR anti-CEA/CD30 en comparación con las células T de CAR monoespecífico anti-CEA. Se inyectaron conjuntamente dosis subterapéuticas de células T (2,5x10⁵ células/ratón) sin CAR y células T modificadas por ingeniería o bien con el CAR anti-CEA/CD30 o bien con el CAR anti-CEA con células tumorales C15A3 CEA⁺ CD30⁻ (1x10⁶ células/ratón) en ratones inmunodeficientes en Rag^{-/-} y cadena gamma común^{-/-}. Para su comparación, se

inyectaron células tumorales C15A3 sin células T (w/o). Se determinaron los volúmenes tumorales y el área bajo la curva (AUC). Se determinó la significación mediante la prueba de la t de Student. Se indicaron mediante asteriscos las diferencias significativas ($p < 0,05$).

Figura 8: la figura 8A muestra la representación esquemática de CAR anti-CD30 y el CAR biespecífico de CD25/CEA de SEQ ID NO: 18 codificado por la secuencia de SEQ ID NO: 17. Se cambió HRS3-scFv del CAR n.º 1457 por el scFv anti-CD25 RFT5. La estructura principal del CAR n.º 1576 resultante es idéntica al CAR n.º 1457 mostrado en la figura 1. La figura 8B muestra la especificidad de la citotoxicidad. Se incubaron conjuntamente células T de CAR ($0,625-5 \times 10^4$ células/pocillo) durante 24 horas con células tumorales CEA⁺ o CEA⁻ ($2,5-5 \times 10^4$ células/pocillo), tal como se indica. Sólo las células T de CAR que expresaban el CAR biespecífico anti-CD30/CEA lisaron las células diana CEA⁺, mientras que las células T de CAR con el CAR biespecífico anti-CD25/CEA y las células T de CAR con un CAR monoespecífico anti-CEA lisaron las dianas CEA⁺ con menor eficiencia. Las células tumorales CEA⁻ no se lisaron, lo que demuestra la especificidad para CEA⁻ de las células T de CAR.

Figura 9: la figura 9A es una representación esquemática de la composición molecular de las moléculas de CAR con especificidad para CD30/MUC1 de SEQ ID NO: 20 codificado por la secuencia de SEQ ID NO: 19 y CD30/TAG-72 de SEQ ID NO: 22 codificado por la secuencia de SEQ ID NO: 21. Se usa B72.3 para el CAR anti-TAG-72. Excepto para el scFv anti-CEA, las moléculas son idénticas al CAR mostrado en la figura 1. La expresión en la superficie de las células de los CAR CD30/Muc1 y CD30/TAG-72 se demuestra en la figura 9B mediante citometría de flujo.

Descripción detallada de la presente invención

Los inventores tienen como objetivo proporcionar nuevos polipéptidos recombinantes, tal como se menciona en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que contienen al menos los siguientes dominios comenzando desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal: un primer dominio que contiene una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 y una unidad de anticuerpo, siendo dicha unidad de anticuerpo específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada que es específica de un antígeno asociado a tumor; opcionalmente, un dominio espaciador; un dominio transmembrana; y un dominio de señalización citoplásmica. Estos polipéptidos recombinantes representan péptidos de CAR biespecíficos. En una realización de la presente invención, estos polipéptidos de CAR se expresan por células T modificadas por ingeniería genética que contienen y eventualmente expresan estos polipéptidos de CAR.

Es decir, la presente invención se refiere a un polipéptido recombinante que tiene al menos los siguientes dominios comenzando desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal: un primer dominio que contiene una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 y una unidad de anticuerpo, siendo dicha unidad de anticuerpo específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada, en particular, siendo específica de un antígeno asociado a tumor; opcionalmente, un dominio espaciador; un dominio transmembrana; y un dominio de señalización citoplásmica según la reivindicación 2.

Del mismo modo, la presente invención se refiere a los siguientes dominios, un primer dominio una unidad de anticuerpo, siendo dicha unidad de anticuerpo específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada, y un segundo dominio que contiene una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla; opcionalmente, un dominio espaciador; un dominio transmembrana; y un dominio de señalización citoplásmica.

Tal como se usa en el presente documento, el término “comprende” o “que comprende”, así como los términos “contiene” o “que contiene”, incluyen la realización de “consiste” o “que consiste”.

El término “homólogo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a moléculas, ya sean ADN o polipéptidos, que tienen una homología de secuencia de una determinada cantidad, concretamente, de al menos el 95%, como al menos el 96%, el 97%, el 98%, el 99% de la secuencia de ácido nucleico o la secuencia de aminoácidos a la que se refiere. La homología se refiere a la magnitud de identidad entre dos secuencias. Las secuencias homólogas tienen las mismas características o similares, en particular, tienen la misma propiedad o similar de la secuencia que se identifica. Por ejemplo, el homólogo de la secuencia de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 tiene la misma especificidad de unión o similar que la molécula de CD30, como es el caso de la molécula de HRS3-scFv. Además, los homólogos incluyen moléculas de ácido nucleico que codifican para el mismo péptido pero pueden variar en su secuencia debido a la degeneración del código genético. Además, “identificar” se refiere a la presencia de moléculas de aminoácido o ácido nucleico idénticas en orden tal como se describe para la secuencia a la que se refiere. Es decir, en el caso de al menos el 90% de identidad, el 90% o más de las moléculas de ácido nucleico y aminoácido, respectivamente, son idénticas en las posiciones respectivas. A menos que se identifique lo contrario, los términos “homología” e “identidad” se usan de manera intercambiable en el presente documento. En particular, el homólogo de la secuencia de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 incluye unidades de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla que se unen al mismo epítipo reconocido por HRS3-scFv.

Además, el término “modificadas por ingeniería genética” se refiere a que las células se manipulan mediante ingeniería genética. Es decir, las células contienen una secuencia heteróloga que no se produce de manera natural

en dichas células. Normalmente, la secuencia heteróloga se introduce a través de un sistema de vectores u otros medios para introducir moléculas de ácido nucleico en las células, incluyendo liposomas. La molécula de ácido nucleico heteróloga puede integrarse en el genoma de dichas células o puede estar presente de manera extracromosómica, por ejemplo, en forma de plásmidos. El término también incluye realizaciones de introducir polipéptidos de CAR aislados, modificados por ingeniería genética, en la célula.

Generalmente, los CAR son proteínas de fusión que consisten en un dominio de reconocimiento de tipo anticuerpo extracelular fusionado a proteínas de señalización de células T intracelulares. Normalmente, el ectodominio que contiene la región de reconocimiento de antígeno comprende un péptido señal y una unidad de reconocimiento de antígeno. Según la presente invención, el ectodominio comprende una unidad anti-CD30 de cadena sencilla en combinación con una unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada, en particular, que es específica de un antígeno asociado a tumor. La unidad de cadena sencilla es una unidad de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2. Es decir, la unidad anti-CD30 de cadena sencilla es una unidad de cadena sencilla que es específica del epítipo de la molécula de CD30 reconocida por la unidad anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2.

El ectodominio puede estar espaciado del dominio transmembrana por la presencia de un dominio espaciador. Dicho dominio espaciador opcional une el dominio de unión a antígeno al dominio transmembrana, y se prefiere que dicho dominio transmembrana sea lo suficientemente flexible como para permitir que el dominio de unión a antígeno se oriente en direcciones diferentes para facilitar el reconocimiento de antígeno.

El dominio transmembrana es normalmente una hélice alfa hidrófoba que atraviesa la membrana. Finalmente, el endodominio representa el dominio de señalización en el citoplasma de las células.

Además, el término "unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada" se refiere al sitio de unión derivado de un anticuerpo de cualquier especie, o bien en forma de una sola cadena de polipéptido o bien múltiples cadenas de polipéptido asociadas de manera covalente o no covalente. Estos dominios se caracterizan por la unión específica a una molécula en la superficie de una célula diana. Alternativamente, puede usarse cualquier otro resto de unión distinto de un anticuerpo como dominio de direccionamiento en un CAR, por ejemplo, el resto de unión de un receptor, como un receptor de citocinas.

Además, el término "unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno asociado a tumor" se refiere a un dominio de unión con especificidad para una molécula diana presente en la superficie celular expresada por células tumorales y que se compone de un polipéptido, un hidrato de carbono o un lípido, o combinaciones de los mismos, que se expresa de manera exclusiva o preferente por células malignas.

El término "CAR funcional" se refiere a un CAR expresado por células inmunitarias que, mediante la unión específica a la molécula diana relacionada, activa la propia célula inmunitaria para aumentar la biosíntesis de proteínas, la secreción de citocinas, la proliferación celular y la lisis de células diana.

Además, el término "células CD30⁺" o "células cancerosas CD30⁺" se refiere a células (ya sean células no cancerosas o cancerosas) que expresan en su superficie la molécula de CD30.

Los términos "células no tumorales" y "células tumorales", así como "células no cancerosas" y "células cancerosas", se usan de manera intercambiable en el presente documento, a menos que se defina lo contrario.

El término "células T CIK" o "células T NK", que se usan de manera intercambiable en el presente documento, se refiere a un grupo heterogéneo de células T que comparten propiedades tanto de células T como de linfocitos citolíticos naturales (NK). Las células T CIK de CAR se obtienen mediante técnicas de cultivo conocidas para obtener, en primer lugar, células T NK o células T CIK y, después de eso, modificar por ingeniería las propias células con el CAR mediante métodos conocidos.

El polipéptido recombinante según la presente invención representa un CAR biespecífico, también identificado en el presente documento como CAR específico dual. En una realización, el orden en el primer dominio es, desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal: i) una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla y una unidad de anticuerpo, siendo dicha de anticuerpo específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada, o ii) una unidad de anticuerpo, mediante lo cual dicha unidad de anticuerpo es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada, y una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla.

Se prefiere que la unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada sea una unidad de anticuerpo que es específica de un antígeno asociado a tumor.

En una realización de la presente invención, el CAR presente en la célula T comprende una secuencia líder que se ubica de manera N-terminal con respecto al primer dominio que contiene la unidad de cadena sencilla anti-CD30 y la unidad de anticuerpo.

Además, en otra realización, la unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla es un péptido HRS3-scFv, en particular, de SEQ ID NO: 2, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 1. En el presente documento se ha reconocido que un fragmento de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de la región variable (scFv), en particular, de HRS3, permite mostrar la actividad deseada. En una realización, el fragmento de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla es un fragmento que reconoce y se une al epítipo de HRS-scFv.

En otra realización, el dominio espaciador de la molécula de CAR es un dominio CH2CH3 bisagra de IgG1 de SEQ ID NO: 6 u homólogos del mismo, que tiene al menos el 95% de identidad con el mismo, preferiblemente, el dominio espaciador es un dominio CH2CH3 bisagra de IgG1 mutado según SEQ ID NO: 6, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 5.

En algunas realizaciones, puede ubicarse un ligador entre el dominio espaciador y el dominio transmembrana.

Además, otra realización se refiere a una célula T con un receptor de antígeno quimérico en el que el dominio transmembrana se deriva de la molécula de CD28, por ejemplo, el dominio transmembrana de la molécula de CD28 que carece del dominio Ick de SEQ ID NO: 8, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 7.

El dominio de señalización o endodominio o dominio intracelular, que se usan de manera intercambiable en el presente documento, contiene un CD3 zeta o una cadena de señalización de la cadena gamma del receptor de FcÉpsilon o un dominio coestimulador, o tanto CD3zeta como un dominio coestimulador o tanto la cadena gamma del receptor de FcÉpsilon como un dominio coestimulador. Por ejemplo, el dominio intracelular es un dominio de señalización CD3 zeta de SEQ ID NO: 10, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 9, o un homólogo del mismo que tiene al menos el 95% de homología. En otra realización, el dominio intracelular es el dominio de señalización gamma del receptor de Fc de IgE de SEQ ID NO: 12, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 11, o un homólogo del mismo que tiene al menos el 95% de identidad. El dominio de señalización es responsable de la activación de las células T, en particular, de la actividad citotóxica y de la liberación de citosinas, incluyendo la secreción de interferón-gamma.

La molécula de CAR puede ser una molécula de CAR de la denominada segunda generación. Las moléculas de CAR de segunda generación tienen dominios de señalización mejorados que contienen adicionalmente un segundo dominio de señalización (coestimulador), por ejemplo, derivado de CD28, CD134 (OX40) o CD137 (4-1BB). Las moléculas de CAR de tercera generación contienen un dominio de señalización coestimulador combinado, por ejemplo, CD28 combinado con CD137 o CD134.

Una visión general sobre las moléculas de CAR se proporciona, por ejemplo, en Gilham D.E. *et al.*, Trans. and Molecular Medicine, 2012, 18(7), 377-384.

En una realización preferida de la presente invención, la célula T es una célula T con un receptor de antígeno quimérico, en la que el receptor de antígeno quimérico es un polipéptido de SEQ ID NO: 14, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 13. Dicho CAR también se denomina en el presente documento n.º 1457.

El CAR anti-CD30 anti-CEA n.º 1457 se expresa en la superficie de células T y se compone de la parte extracelular del fragmento de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de la región variable (scFv) HRS3, el anticuerpo BW431/26-scFv correspondiente a SEQ ID NO: 4, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 3, correspondiente al anticuerpo anti-CEA BW431/26, y el dominio CH2CH3 de IgG1 humana modificado como espaciador entre scFv y el dominio transmembrana. La modificación del dominio de IgG1 consiste en mutaciones puntuales para convertir la secuencia de aminoácidos de tipo natural PELLGGP X₁₃ MISRT (SEQ ID NO: 15) en PPVA-GP X₁₃ MIART (SEQ ID NO: 16), que reduce la unión imprevista del dominio Fc de CAR a los receptores de Fc en otras células, como células inmunitarias innatas, que mediarían en su activación. La parte proximal a la membrana intracelular y transmembrana de CAR n.º 1457 se deriva de CD28 humano y se fusiona con la parte intracelular de CD3zeta humano. La secuencia de CD28 está mutada en P560 > A560, P563 > A563, P564 > A564 (Kofler *et al.*, Mol. Ther. 19, 760 - 767 (2011)). Por tanto, se destruye el sitio de unión a CD28 para la Ick cinasa con la consecuencia de que se evitan la activación de la ruta de señalización de Ick y la posterior secreción de IL-2 mediada por CAR. Los modelos preclínicos implican que, en estas condiciones, se reduce la represión mediada por células Treg de las funciones efectoras de las células T de CAR.

Como ejemplo, el polipéptido recombinante es el polipéptido de SEQ ID NO: 14, por ejemplo, codificado por la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 13, que corresponde al CAR n.º 1457 mostrado en la figura 1.

En otra realización, el polipéptido recombinante es un polipéptido en el que la unidad de anticuerpo se une a un antígeno asociado a tumor, incluyendo uno cualquiera de antígeno carcinoembrionario (CEA), CA19-9, CA72-4 también conocido como TAG-72, PSCA, Muc-1, HMW-MAA, melanotransferrina p97, receptor de acetilcolina fetal, ErbB2 (Her2/neu), proteína de resistencia a múltiples fármacos (MDR), CD19, CD20, TOSO.

Por ejemplo, el CAR n.º 1457 de SEQ ID NO: 14 corresponde a un polipéptido en el que la unidad de anticuerpo es específica de CEA. Además, los CAR útiles según la presente invención se muestran en la figura 9, concretamente, CAR de CD30/MUC-1 o CAR de CD30/Tag72. Estos CAR son el n.º 1587, anti-CD30/MUC1, de SEQ ID NO: 20, codificado por la secuencia de SEQ ID NO: 19, y el n.º 1650, anti-CD30/TAG-72, de SEQ ID NO: 22, codificado por la secuencia de SEQ ID NO: 21.

Tal como se demuestra en los ejemplos, las células T (ya sean células T de CD4 o de CD8) o las células CIK demuestran la lisis específica de células que no expresan CD30 pero que expresan el antígeno al que sólo se une específicamente la unidad de anticuerpo. Es decir, sorprendentemente, el porcentaje de lisis específica es mayor con la molécula de CAR biespecífica en comparación con la molécula monoespecífica que sólo contiene la unidad de unión a anticuerpo específica del antígeno presente en la superficie de la célula diana predeterminada.

La célula diana es una célula tumoral.

Además, la célula diana predeterminada puede ser una célula implicada en defectos autoinmunitarios en un sujeto. En ese caso particular, se modifican las células supresoras, en particular las células T reguladoras, con el CAR descrito con el fin de reprimir la reacción inmunitaria inflamatoria aguda en el tejido seleccionado como diana. El CAR se une al antígeno tisular con un scFv, por ejemplo, anti-HLA B27, y a CD30 con el otro scFv.

Aunque no se expresa por las células diana predeterminadas, la unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla presente en la molécula de CAR aumenta la lisis específica de las células diana. Además, se ha demostrado sorprendentemente que, en el caso de células negativas para CD30, puede aumentarse el porcentaje de lisis específica tal como se demuestra en los ejemplos. Esto no sólo es cierto para la lisis por CAR que expresa células T, sino también por células CIK de CAR. Se considera que la autoestimulación de las células T de CAR permite aumentar la lisis específica de las células diana.

Además, la presente invención proporciona moléculas de ácido nucleico que comprenden la secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido según la presente invención. Además, se proporcionan vectores que comprenden la secuencia de ácido nucleico según la presente invención que codifica para el polipéptido que se describe. El experto conoce bien vectores y sistemas de vectores adecuados y, en particular, vectores que permiten la transfección y transducción de células eucariotas, en particular, células T. Por ejemplo, el vector es un vector viral.

Además, la presente invención proporciona una célula aislada, una línea de células o una célula huésped que contiene el vector según la presente invención o una molécula de ácido nucleico según la presente invención. Preferiblemente, dicha célula, línea de células o célula huésped es una célula T aislada, por ejemplo, una célula T CD4⁺ o una célula T CD8⁺.

Además, se describe un kit o sistema que contiene el vector según la presente invención, la célula, la línea de células o la célula huésped según la presente invención, o el polipéptido según la presente invención o una molécula de ácido nucleico según la presente invención, o mezclas de los mismos, para su uso en la producción de células T que expresan el receptor de antígeno quimérico. El kit o sistema puede contener componentes adicionales, incluyendo medios para introducir el vector, el polipéptido o las moléculas de ácido nucleico en las células. El experto conoce bien medios adecuados para hacerlo.

Además, en el presente documento se proporcionan células T, como células T CD8 y/o CD4, que expresan en su superficie receptores de antígeno quiméricos que tienen en el dominio extracelular una unidad de anticuerpo, siendo dicha unidad de anticuerpo específica de un antígeno asociado a tumor y/o siendo específica de un antígeno viral presente en la superficie para un antígeno presente en la superficie de una célula diana predeterminada, y una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla expresada por dichas células. Las unidades pueden estar presentes o bien en un único polipéptido, por ejemplo, un polipéptido tal como se define en el presente documento, o bien, alternativamente, pueden estar presentes en receptores de antígeno quiméricos diferentes.

En otro aspecto, el linfocito puede ser una célula T CIK de CAR, tal como se define en el presente documento.

Los linfocitos (células T), incluyendo las células T CD8⁺, CD4⁺ o CIK, demuestran una mayor lisis específica de las células diana, reduciendo de ese modo los efectos secundarios y, además, superando el problema de rendimiento insuficiente en la unión antitumoral debido a diversos motivos, por ejemplo, una amplificación y una actividad citolítica menores después de la transferencia adoptada al paciente.

Se considera que la presencia de la unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla permite amplificar los linfocitos modificados por ingeniería genética y mejorar la persistencia de los mismos, superando de ese modo el problema de rendimiento insuficiente.

Las células son particularmente útiles en el tratamiento de cáncer, en particular cáncer CD30⁺, mediante lo cual dicho cáncer es un cáncer que expresa en las células cancerosas el antígeno al que se dirige el anticuerpo del

antígeno antitumoral.

En un aspecto adicional, se da a conocer el uso de células T con un receptor de antígeno quimérico según la presente invención en terapia adaptativa con células para tratar cáncer CD30⁻ o CD30⁺ en un sujeto que lo necesita. Por ejemplo, el cáncer CD30⁺ puede ser linfoma de Hodgkin, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia linfocítica aguda, linfoma cutáneo, micosis fungoide, enfermedades linfoproliferativas, mastocitosis sistémica, teratocarcinoma, tumores malignos derivados de células madre, o células madre cancerosas u otras. En particular, la invención se refiere al uso de tales células inmunitarias para el tratamiento de cánceres CD30⁻, por ejemplo, de mama, de pulmón, de próstata, de páncreas, carcinomas gastrointestinales, cáncer neuronal y otros. Por tanto, la presente invención puede fomentar la terapia inmunitaria adaptativa mediante células T de CAR.

La presente invención se describe además por medio de ejemplos. Dichos ejemplos ilustran la invención adicionalmente sin limitarla a los mismos.

Ejemplos

Preparación de CAR n.º 1457

Se generó el casete de expresión del CAR biespecífico anti-CD30/CEA de la siguiente manera: Se amplificaron por PCR el scFv anti-CD30 (HRS3) y el scFv anti-CEA (BW431/26) y se flanquearon con un ligador mediante secuencias solapantes en el extremo 3' terminal de CD30-scFv y el extremo 5' terminal de scFv anti-CEA mientras que el ligador codificada para un ligador (Gly(4)-Ser(1))₅ de 40 AA. Se ensamblaron los ADN de los scFv mediante SOE-PCR, se digirieron con NcoI y BamHI y se ligaron en el sitio NcoI/BamHI del vector retroviral pBullet-HRS3-scFv-Fc-CD28deltaIck-zeta, reemplazando de ese modo el HRS3-scFv por el HRS3scFv-BW431/26scFv combinado. El vector resultante que codifica para el CAR biespecífico anti-CD30/CEA se denominó n.º 1457. Las composiciones modulares del CAR n.º 1457 y sus equivalentes monoespecíficos anti-CEA (n.º 946) y anti-CD30 (n.º 1138) se muestran esquemáticamente en la figura 1.

Se produjo el vector retroviral que codifica para el CAR n.º 1457 según SOP-GL-VectProd usando una envuelta pseudotipada de Galv. En resumen, se realizó de manera transitoria la producción de partículas de vectores en la línea de células de riñón embrionarias humanas 293T después de la transfección de ADN mediada por Polyfect®. Se pseudotiparon las partículas de vectores con Galv. No se determinó el título de los vectores.

Se realizó la transducción de linfocitos sanguíneos humanos según técnicas convencionales SOP. En resumen, se transdujeron linfocitos humanos con un sobrenadante de 2 días a partir de células 293T transfectadas durante 2 días. Se expresó el CAR n.º 1457 por el 20-35% de células T humanas, tal como se midió el día 2 mediante citometría de flujo usando un anticuerpo dirigido al dominio constante extracelular CH2 CH3 de IgG1 del CAR.

Pueden registrarse las células T CD4⁺ y CD8⁺ que expresan el CAR n.º 1457 en la superficie celular mediante el uso del anticuerpo 9G10 que se une específicamente al dominio HRS3-scFv del CAR. Las células T modificadas por ingeniería con el CAR n.º 1457 se unen específicamente a células que expresan CD30 y se activan, indicado por el aumento de secreción de citocinas incluyendo IFN- γ , por el aumento de la proliferación y de la citólisis de células diana CD30⁺. Cabe destacar que sólo se secretan niveles de fondo de IL-2 cuando las células T se estimulan por el CAR. Sin embargo, IL-2 se secreta en cantidades fisiológicas cuando las células T se estimulan por su TCR fisiológico y CD28. La activación de las células T de n.º 1457 es específica de antígeno tal como se define por la especificidad del CAR, dado que las células CD30⁻ no desencadenan la activación de células T. El CD30 soluble, que se acumular en el suero de pacientes con linfoma CD30⁺, no bloquea la activación de células T mediada por CAR en concentraciones de hasta 10 μ g/ml [Hombach A, *et al.*, Cancer Res. 15 de marzo de 1998; 58(6):1116-9]. Esto se debe al hecho de que el CAR debe reticularse mediante la unión de múltiples copias del antígeno dirigido con el fin de desencadenar la activación de células T, que sólo puede producirse cuando CD30 se inmoviliza o expresa en la superficie de células diana pero no se produce cuando la proteína CD30 está presente en disolución.

Ejemplo 1: actividad de células T modificadas con CAR específico dual hacia líneas de células CEA⁺ y/o CD30⁺

Se realizó la modificación por ingeniería de células T con CAR n.º 1457 tal como se describió anteriormente. Se detectó el CAR en la superficie de células T mediante citometría de flujo utilizando un anticuerpo contra el dominio Fc en el resto extracelular del CAR (figura 1, 2). Se expresó el CAR anti-CEA/CD30 con una eficiencia similar a los CAR monoespecíficos con el dominio de unión o bien de CD30 o bien de CEA. Para someter a prueba la especificidad dual del CAR n.º 1457, se incubaron conjuntamente células T injertadas con células diana o bien CD30⁺ o bien CEA⁺ y se monitorizaron la citotoxicidad redirigida y la secreción de IFN-gamma. Mientras que las células T con CAR anti-CEA y anti-CD30 sólo se activaron por células diana CEA⁺ o CD30⁺, respectivamente, el CAR biespecífico activa las células T después del cultivo conjunto con células tumorales tanto CEA⁺ CD30⁻ como CEA⁻ CD30⁺. La activación de células T da como resultado la lisis específica de células diana y la secreción de IFN-gamma (consúltese la figura 4, 5 y el ejemplo 3).

Conclusión:

Las células T con el CAR n.º 1457 presentan especificidad dual de unión, es decir, para CD30 y CEA. Las células T que expresan el CAR biespecífico se activaron mediante el acoplamiento de las células diana con un único antígeno de CAR relacionado así como mediante células diana con ambos antígenos.

Ejemplo 2: expansión específica de células T modificadas con CAR n.º 1457

Se modificaron por ingeniería células T con el CAR n.º 1457 o, para su comparación, con el CAR monoespecífico de CD30 o CEA correspondiente, respectivamente, y se cultivaron en presencia de IL-2 (400 U/ml). El número inicial de células T CAR⁺ fue del 20-30%. Se sometieron a prueba las células en diferentes puntos de tiempo para determinar la expresión de CAR mediante citometría de flujo. Tal como se resume en la figura 3, el número de células T con el CAR anti-CD30 y el CAR anti-CEA/CD30 n.º 1457 aumentó hasta el 90% de células T durante el cultivo, mientras que el número de células T de CAR anti-CEA no superó el 50%.

Conclusión:

Los datos demuestran que las células T de CAR con el dominio de unión a CD30 se expanden más en comparación con las células T de CAR con un dominio de unión a CEA. El efecto superior también está presente cuando el dominio de unión anti-CD30 se une con el dominio de unión anti-CEA.

Ejemplo 3: lisis específica aumentada por células T modificadas por ingeniería con CAR n.º 1457 y células T CIK modificadas por ingeniería con CAR n.º 1457 hacia células diana negativas para CD30

(a) Células T

Se modificaron por ingeniería células T humanas para expresar el CAR n.º 1457, el CAR específico de CEA y el CAR específico de CD30, respectivamente. Se incubaron conjuntamente el mismo número de células T de CAR con células tumorales que expresan o bien CEA o bien CD30, o ambos. Los datos presentados en la figura 4 muestran que la línea celular que es negativa tanto para CEA como para CD30 (Colo320) no se lisó, mientras que se observó lisis específica de células LS174T, que es una línea de células CEA⁺/CD30⁻. En este caso, las células T de CAR anti-CEA/CD30 demuestran una mayor lisis específica en comparación con las células T de CAR anti-CEA.

La actividad citolítica está acompañada por la liberación de IFN- γ , un marcador para la activación de las células T, tal como se muestra en la figura 5. Las células T de CAR anti-CEA/CD30 n.º 1457 produjeron IFN-gamma cuando se incubaron conjuntamente con las células LS174T CEA⁺/CD30⁻ así como con las células CEA⁺ CD30⁺. No se produjo IFN-gamma tras la incubación conjunta con células Colo320 CEA⁻ CD30⁻. Las células T con el CAR anti-CEA o el CAR anti-CD30 liberaron IFN-gamma sólo tras la incubación conjunta con células CEA⁺ o CD30⁺, respectivamente.

(b) Células CIK

Se generaron células CIK según procedimientos convencionales y se modificaron por ingeniería con el CAR anti-CD30/CEA n.º 1457. Después de 8 días tras la transducción, se cultivaron conjuntamente células CIK de CAR n.º 1457 con células diana CD30⁻ CEA⁺, CD30⁻ CEA⁻ o CD30⁺ CEA⁻ y se registró la lisis de células diana. Las células CIK que expresan el CAR monoespecífico anti-CD30 y anti-CEA correspondiente, respectivamente, sirvieron como control. Las células T de CAR biespecífico anti-CD30/CEA y monoespecífico anti-CD30 lisaron las células diana CD30⁺ con una eficiencia similar. En cambio, las células CIK de CAR n.º 1457 lisaron las células diana CEA⁺ CD30⁻ de manera más eficiente que las células CIK con el CAR anti-CEA (figura 6). Los datos indican que, sorprendentemente, las células CIK de CAR n.º 1457 muestran una mayor actividad citolítica contra células tumorales que no expresan CD30 que las células CIK con un CAR específico de CEA.

Conclusión:

Las células T y las células CIK modificadas por ingeniería con el CAR n.º 1457 muestran una reactividad antitumoral potenciada contra células diana, ambas que expresan y que carecen de CD30, en comparación con las células T con el CAR monoespecífico. Esto es inesperado, en particular para aquellas células diana que carecen de CD30.

Ejemplo 4: actividad antitumoral mejorada de células T de CAR n.º 1457 en un modelo de xenoinjerto de ratón.

Se monitorizó la actividad *in vivo* de células T de CAR anti-CD30/CEA n.º 1457 en ratón inmunodeficiente en Rag^{-/-} y cadena gamma común^{-/-}. Se modificaron por ingeniería células T de CAR anti-CEA y CAR anti-CD30/CEA n.º 1457 tal como se describió anteriormente, y se inyectaron conjuntamente por vía subcutánea en una dosis subterapéutica (2,5x10⁵ células T de CAR/animal) con células tumorales C15A3 CEA⁺ CD30⁻ (1x10⁶ células/animal), que se transfectaron para expresar CEA humano, en ratones. Se usaron ratones sin células T y con células T sin modificar como control y se monitorizó el crecimiento tumoral cada 2º-3º día. Se determinaron las curvas de crecimiento (figura 7A) y el área bajo la curva (figura 7B). Mientras que las células T de CAR anti-CEA produjeron un ligero retardo del crecimiento tumoral, las células T de CAR anti-CD30/CEA ralentizaron significativamente el crecimiento

tumoral, lo que indica una mayor actividad anti-CEA de las células T de CAR biespecífico n.º 1457 *in vivo* que las células T con el CAR anti-CEA.

Conclusión:

Las células T de CAR biespecífico anti-CD30/CEA son más eficaces en una respuesta antitumoral prolongada contra células tumorales CEA⁺ CD30⁻ *in vivo* en comparación con las células T con el CAR monoespecífico anti-CEA. La reactividad antitumoral mejorada se debe al particular diseño de CAR porque CD30 humano no se expresa por el huésped murino ni por las células tumorales de ratón injertadas, y no se reconoce en células tumorales o en células del huésped.

Ejemplo 5: actividad antitumoral mejorada de CAR anti-CD30/CEA n.º 1457 pero no de CAR anti-CD25-CEA n.º 1576.

Se generó el CAR biespecífico n.º 1576 de SEQ ID NO: 18 codificado por la secuencia de SEQ ID NO: 17 con especificidad tanto para el antígeno de activación de linfocitos CD25 como para CEA sustituyendo el HRS3-scFv por el de scFv anti-CD25 RFT5 (figura 8A; consúltase la figura 1). Se realizó la modificación por ingeniería de células T con CAR n.º 1576 tal como se describió anteriormente flanqueando el ADNc para el scFv anti-CD25 con secuencias solapantes y secuencias para las enzimas de restricción apropiadas mediante PCR. Se sustituyó la secuencia del HRS3-scFv y se expresó el CAR n.º 1576 resultante mediante transducción con sobrenadante retroviral según SOP de transducción. Se detectó el CAR en la superficie de las células T mediante citometría de flujo utilizando un anticuerpo contra el dominio Fc en el resto extracelular del CAR. Se expresó el CAR anti-CD25/CEA con una eficiencia similar a los CAR anti-CD30 monoespecífico y biespecífico, respectivamente. Se sometieron a prueba la activación de células T de CAR específico y la lisis de células diana CEA⁺ mediante cultivo conjunto con células tumorales CEA⁺ y CEA⁻, respectivamente. Todos los CAR lisaron específicamente células diana CEA⁺, pero el CAR anti-CD30/CEA lisó células tumorales con una mayor eficiencia que los CAR anti-CEA monoespecífico y biespecífico y anti-CD25/CEA, respectivamente (figura 8B).

Conclusión:

Las células T con el CAR anti-CD30/CEA n.º 1457 pero no con el CAR anti-CD25/CEA n.º 1576 se activaron contra células diana CEA⁺ con una mayor eficiencia que las células T de CAR monoespecífico anti-CEA.

Ejemplo 6: anticuerpos biespecíficos anti-CD30 con segunda especificidad diferente

Se generaron moléculas de CAR biespecíficas anti-CD30 tal como se describió en el ejemplo 1, excepto por la sustitución del resto de scFv anti-CEA por restos de scFv con especificidad contra MUC1, C595-scFv, que dio como resultado el CAR anti-CD30/MUC1 n.º 1587, y con especificidad contra TAG-72, B72.3-scFv, que dio como resultado el CAR anti-CD30/TAG-72 n.º 1650. Las secuencias de los mismos son las SEQ ID NO: 20 y 19 para n.º 1587 y las SEQ ID NO: 22 y 21 para n.º 1650.

La figura 9A es una representación esquemática de estos CAR biespecíficos. La figura 9B demuestra la expresión de estas moléculas de CAR en células 293T transfectadas.

Lista de secuencias

<110> Universitaet zu Koeln

<120> Receptor de antígeno quimérico y su uso

<130> 4677-005 PCT-1

<150> documento EP14177278.0

<151> 16-07-2014

<160> 22

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 756

<212> ADN

<213> humano

<220>

<221> CDS

ES 2 833 162 T5

<222> (1)..(756)

<400> 1

aga atg gcc cag gtg caa ctg cag cag tca ggg gct gag ctg gct aga	48
Arg Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg	
1 5 10 15	
cct ggg gct tca gtg aag atg tcc tgc aag gct tct ggc tac acc ttt	96
Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe	
20 25 30	
act acc tac aca ata cac tgg gta aga cgg agg cct gga cac gat ctg	144
Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Arg Arg Pro Gly His Asp Leu	
35 40 45	
gaa tgg att gga tac att aat cct agc agt gga tgt tct gac tac aat	192
Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Cys Ser Asp Tyr Asn	
50 55 60	
caa aac ttc aag ggc aag acc aca ttg act gca gac aag tcc tcc aac	240
Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn	
65 70 75 80	
aca gcc tac atg caa ctg aac agc ctg aca tct gag gac tct gcg gtc	288
Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val	
85 90 95	
tat tac tgt gca aga aga gcg gac tat ggt aac tac gaa tat acc tgg	336
Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp	
100 105 110	
ttt gct tac tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca agt gga	384
Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Gly	
115 120 125	
ggc ggt tca ggt gga ggt ggc tct ggc ggt ggc gga tcg gtc atc gag	432
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Ile Glu	
130 135 140	
5 ctc act cag tct cca aaa ttc atg tcc aca tca gta gga gac agg gtc	480

Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val	
145 150 155 160	
aac gtc acc tac aag gcc agt cag aat gtg ggt act aat gta gcc tgg	528
Asn Val Thr Tyr Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp	
165 170 175	
ttt caa caa aaa cca ggg caa tct cct aaa gtt ctg att tac tcg gca	576
Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala	
180 185 190	
tct tac cga tac agt gga gtc cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct	624
Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser	
195 200 205	
gga aca gat ttc act ctc acc atc agc aat gtg cag tct gaa gac ttg	672
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu	
210 215 220	
gca gag tat ttc tgt cag caa tat cac acc tat cct ctc acg ttc gga	720
Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly	
225 230 235 240	
ggg ggc acc aag ctg gaa atc aaa cgg tca gat ccc	756
Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Asp Pro	
245 250	

<210> 2
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> humano

<400> 2

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

ES 2 833 162 T5

Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Ile Glu
130 135 140

Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

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

Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala
180 185 190

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

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu
210 215 220

Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Asp Pro
245 250

<210> 3
<211> 734
5 <212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
10 <223> péptido sintético

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(732)

15 <400> 3

ggt gtc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag tca ggt cca ggt ctt gtg 48
Gly Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val
1 5 10 15

aga cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc acc 96
Arg Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr
20 25 30

atc agc agt ggt tat agc tgg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga 144
Ile Ser Ser Gly Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg
35 40 45

ggt ctt gag tgg att gga tac ata cag tac agt ggt atc act aac tac 192

Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Gln	Tyr	Ser	Gly	Ile	Thr	Asn	Tyr		
50					55					60							
aac	ccc	tct	ctc	aaa	agt	aga	gtg	aca	atg	ctg	gta	gac	acc	agc	aag	240	
Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Met	Leu	Val	Asp	Thr	Ser	Lys		
65				70					75						80		
aac	cag	ttc	agc	ctg	aga	ctc	agc	agc	gtg	aca	gcc	gcc	gac	acc	gcg	288	
Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala		
			85					90					95				
gtc	tat	tat	tgt	gca	aga	gaa	gac	tat	gat	tac	cac	tgg	tac	ttc	gat	336	
Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asp	Tyr	His	Trp	Tyr	Phe	Asp		
			100				105						110				
gtc	tgg	ggc	caa	ggg	acc	acg	gtc	acc	gtc	tcc	tca	gga	ggg	ggg	gga	384	
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly		
		115					120					125					
tcg	ggc	ggg	ggc	ggg	tcg	ggg	ggc	ggc	gga	tct	gac	atc	cag	ctg	acc	432	
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr		
	130					135					140						
cag	agc	cca	agc	agc	ctg	agc	gcc	agc	gtg	ggg	gac	aga	gtg	acc	atc	480	
Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile		
	145				150					155					160		
acc	tgt	agt	acc	agc	tcg	agt	gta	agt	tac	atg	cac	tgg	tac	cag	cag	528	
Thr	Cys	Ser	Thr	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Tyr	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln		
			165						170					175			
aag	cca	ggg	aag	gct	cca	aag	ctg	ctg	atc	tac	agc	aca	tcc	aac	ctg	576	
Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Asn	Leu		
			180					185					190				
gct	tct	ggg	gtg	cca	agc	aga	ttc	agc	ggg	agc	ggg	agc	ggg	acc	gac	624	
Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp		
		195					200					205					
ttc	acc	ttc	acc	atc	agc	agc	ctc	cag	cca	gag	gac	atc	gcc	acc	tac	672	
Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr		
	210					215					220						
tac	tgc	cat	cag	tgg	agt	agt	tat	ccc	acg	ttc	ggc	caa	ggg	acc	aag	720	
Tyr	Cys	His	Gln	Trp	Ser	Ser	Tyr	Pro	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys		
	225				230					235					240		
gtg	gag	atc	aaa	gt												734	
Val	Glu	Ile	Lys														

<210> 4
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> constructo sintético

<400> 4

Gly Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val

ES 2 833 162 T5

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

<210> 5

<211> 705
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> ácido nucleico sintético

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (1)..(705)

<400> 5

gat ccc gcc gag ccc aaa tct cct gac aaa act cac aca tgc cca ccg	48
Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro	
1 5 10 15	
tgc cca gca cct cca gtc gcg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca	96
Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	
20 25 30	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc gcc cgg acc cct gag gtc aca tgc	144
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	
35 40 45	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg	192
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp	
50 55 60	
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag	240
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu	
65 70 75 80	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg	288
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu	
85 90 95	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac	336
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn	
100 105 110	
aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg	384
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly	
115 120 125	
cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag	432
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu	
130 135 140	
ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat	480
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr	
145 150 155 160	
ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac	528
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn	
165 170 175	
aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc	576
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe	
180 185 190	
ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac	624

ES 2 833 162 T5

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
195 200 205

gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 672
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
210 215 220

cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa aaa 705
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys
225 230 235

<210> 6
<211> 235
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> constructo sintético

<400> 6

Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
1 5 10 15

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
20 25 30

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
35 40 45

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
50 55 60

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
65 70 75 80

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
85 90 95

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
100 105 110

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
115 120 125

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
130 135 140

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

	165	170	175	
	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
	180	185	190	
	Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
	195	200	205	
	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
	210	215	220	
	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys			
	225	230	235	
5	<210> 7 <211> 204 <212> ADN <213> artificial			
10	<220> <223> ácido nucleico sintético			
15	<220> <221> CDS <222> (1)..(204)			
	<400> 7			
	ttt tgg gtg ctg gtg gtg gtt ggt gga gtc ctg gct tgc tat agc ttg			48
	Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu			
	1 5 10 15			
	cta gta aca gtg gcc ttt att att ttc tgg gtg agg agt aag agg agc			96
	Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser			
	20 25 30			
	agg ctc ctg cac agt gac tac atg aac atg act ccc cgc cgc ccc ggg			144
	Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly			
	35 40 45			
	ccc acc cgc aag cat tac cag gcc tat gcc gcc gca cgc gac ttc gca			192
	Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Ala Tyr Ala Ala Ala Arg Asp Phe Ala			
	50 55 60			
	gcc tat cgc tcc			204
	Ala Tyr Arg Ser			
	65			
20	<210> 8 <211> 68 <212> PRT <213> artificial			
25	<220> <223> constructo sintético			
	<400> 8			

ES 2 833 162 T5

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

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser
20 25 30

Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly
35 40 45

Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Ala Tyr Ala Ala Ala Arg Asp Phe Ala
50 55 60

Ala Tyr Arg Ser
65

<210> 9

<211> 414

5 <212> ADN

<213> humano

<220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(414)

<400> 9

gat ccc aaa ctc tgc tac ctg ctg gat gga atc ctc ttc atc tat ggt 48
Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly
1 5 10 15

gtc att ctc act gcc ttg ttc ctg aga gtg aag ttc agc agg agc gca 96
Val Ile Leu Thr Ala Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
20 25 30

gac gcc ccc gcg tac cag cag ggc cag aac cag ctc tat aac gag ctc 144
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
35 40 45

aat cta gga cga aga gag gag tac gat gtt ttg gac aag aga cgt ggc 192
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
50 55 60

cgg gac cct gag atg ggg gga aag ccg cag aga agg aag aac cct cag 240
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln
65 70 75 80

gaa ggc ctg tac aat gaa ctg cag aaa gat aag atg gcg gag gcc tac 288
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
85 90 95

agt gag att ggg atg aaa ggc gag cgc cgg agg ggc aag ggg cac gat 336
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
100 105 110

ggc ctt tac cag ggt ctc agt aca gcc acc aag gac acc tac gac gcc 384
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
115 120 125

ctt cac atg cag gcc ctg ccc cct cgc taa
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 130 135

414

<210> 10
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> humano

<400> 10

Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly
 1 5 10 15

Val Ile Leu Thr Ala Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
 20 25 30

Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
 35 40 45

Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
 50 55 60

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 65 70 75 80

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 85 90 95

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 100 105 110

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 115 120 125

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 130 135

<210> 11
 <211> 201
 <212> ADN
 <213> humano

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(201)

<400> 11

gat ccc aaa ctc tgc tat atc ctg gat gcc atc ctg ttt ctg tat gga
 Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu Phe Leu Tyr Gly
 1 5 10 15

48

ES 2 833 162 T5

att gtc ctc acc ctc ctc tac tgt cga ctg aag atc caa gtg cga aag 96
Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile Gln Val Arg Lys
20 25 30

gca gct ata acc agc tat gag aaa tca gat ggt gtt tac acg ggc ctg 144
Ala Ala Ile Thr Ser Tyr Glu Lys Ser Asp Gly Val Tyr Thr Gly Leu
35 40 45

agc acc agg aac cag gag act tac gag act ctg aag cat gag aaa cca 192
Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu Thr Leu Lys His Glu Lys Pro
50 55 60

cca cag tag 201
Pro Gln
65

<210> 12
<211> 66
5 <212> PRT
<213> humano

<400> 12

Asp Pro Lys Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu Phe Leu Tyr Gly
1 5 10 15

Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile Gln Val Arg Lys
20 25 30

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

Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu Thr Leu Lys His Glu Lys Pro
50 55 60

Pro Gln
65

<210> 13
<211> 2943
15 <212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> secuencia sintética

<220>
20 <221> CDS
<222> (1)..(2943)

<400> 13

ctc tag act gcc atg gat ttt cag gtg cag att ttc agc ttc ctg cta 48
Leu Thr Ala Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu
1 5 10 15

ES 2 833 162 T5

atc agt gcc tca gtc ata atg tct aga atg gcc cag gtg caa ctg cag Ile Ser Ala Ser Val Ile Met Ser Arg Met Ala Gln Val Gln Leu Gln 20 25 30	96
cag tca ggg gct gag ctg gct aga cct ggg gct tca gtg aag atg tcc Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser 35 40 45	144
tgc aag gct tct ggc tac acc ttt act acc tac aca ata cac tgg gta Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val 50 55 60	192
aga cgg agg cct gga cac gat ctg gaa tgg att gga tac att aat cct Arg Arg Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro 65 70 75	240
agc agt gga tgt tct gac tac aat caa aac ttc aag ggc aag acc aca Ser Ser Gly Cys Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr 80 85 90 95	288
ttg act gca gac aag tcc tcc aac aca gcc tac atg caa ctg aac agc Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser 100 105 110	336
ctg aca tct gag gac tct gcg gtc tat tac tgt gca aga aga gcg gac Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp 115 120 125	384
tat ggt aac tac gaa tat acc tgg ttt gct tac tgg ggc caa ggg acc Tyr Gly Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr 130 135 140	432
acg gtc acc gtc tcc tca agt gga ggc ggt tca ggt gga ggt ggc tct Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 145 150 155	480
ggc ggt ggc gga tcg gtc atc gag ctc act cag tct cca aaa ttc atg Gly Gly Gly Gly Ser Val Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met 160 165 170 175	528
tcc aca tca gta gga gac agg gtc aac gtc acc tac aag gcc agt cag Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Asn Val Thr Tyr Lys Ala Ser Gln 180 185 190	576
aat gtg ggt act aat gta gcc tgg ttt caa caa aaa cca ggg caa tct Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser 195 200 205	624
cct aaa gtt ctg att tac tcg gca tct tac cga tac agt gga gtc cct Pro Lys Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro 210 215 220	672
gat cgc ttc aca ggc agt gga tct gga aca gat ttc act ctc acc atc Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile 225 230 235	720
agc aat gtg cag tct gaa gac ttg gca gag tat ttc tgt cag caa tat Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr 240 245 250 255	768
cac acc tat cct ctc acg ttc gga ggg ggc acc aag ctg gaa atc aaa His Thr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 260 265 270	816

ES 2 833 162 T5

cgg tca gat ccc gga ggc ggg ggt tct ggt gga ggc gga agc ggt ggc	864
Arg Ser Asp Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly	
275 280 285	
ggg ggt tca gga ggc ggg ggt tcc ggt ggt ggc ggc agt ggt ggt ggc	912
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
290 295 300	
ggc agt ggt ggt ggc ggc agt ggt ggt ggc ggc agt ggt gtc cac tcc	960
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val His Ser	
305 310 315	
cag gtc caa ctg cag gag tca ggt cca ggt ctt gtg aga cct agc cag	1008
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln	
320 325 330 335	
acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc acc atc agc agt ggt	1056
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Gly	
340 345 350	
tat agc tgg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga ggt ctt gag tgg	1104
Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp	
355 360 365	
att gga tac ata cag tac agt ggt atc act aac tac aac ccc tct ctc	1152
Ile Gly Tyr Ile Gln Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu	
370 375 380	
aaa agt aga gtg aca atg ctg gta gac acc agc aag aac cag ttc agc	1200
Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser	
385 390 395	
ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc tat tat tgt	1248
Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
400 405 410 415	
gca aga gaa gac tat gat tac cac tgg tac ttc gat gtc tgg ggc caa	1296
Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Tyr His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln	
420 425 430	
ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca gga ggt ggt gga tcg ggc ggt ggc	1344
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly	
435 440 445	
ggg tcg ggt ggc ggc gga tct gac atc cag ctg acc cag agc cca agc	1392
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser	
450 455 460	
agc ctg agc gcc agc gtg ggt gac aga gtg acc atc acc tgt agt acc	1440
Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Thr	
465 470 475	
agc tcg agt gta agt tac atg cac tgg tac cag cag aag cca ggt aag	1488
Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys	
480 485 490 495	
gct cca aag ctg ctg atc tac agc aca tcc aac ctg gct tct ggt gtg	1536
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val	
500 505 510	
cca agc aga ttc agc ggt agc ggt agc ggt acc gac ttc acc ttc acc	1584
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr	

ES 2 833 162 T5

515	520	525	
atc agc agc ctc cag cca gag gac Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp 530	atc gcc acc tac tac tgc cat cag Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln 535	540	1632
tgg agt agt tat ccc acg ttc ggc Trp Ser Ser Tyr Pro Thr Phe Gly 545	caa ggg acc aag gtg gag atc aaa Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys 550	555	1680
gtg gat ccc gcc gag ccc aaa tct cct gac Val Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp 560	aaa act cac aca tgc cca Lys Thr His Thr Cys Pro 570	575	1728
ccg tgc cca gca cct cca gtc gcg gga Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly 580	ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro 585	590	1776
cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc gcc Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala 595	cgg acc cct gag gtc aca Arg Thr Pro Glu Val Thr 600	605	1824
tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp 610	cct gag gtc aag ttc aac Pro Glu Val Lys Phe Asn 615	620	1872
tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn 625	gcc aag aca aag ccg cgg Ala Lys Thr Lys Pro Arg 630	635	1920
gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val 640	gtc agc gtc ctc acc gtc Val Val Ser Val Leu Thr Val 645	650	1968
ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu 660	tac aag tgc aag gtc tcc Tyr Lys Cys Lys Val Ser 665	670	2016
aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys 675	acc atc tcc aaa gcc aaa Thr Ile Ser Lys Ala Lys 680	685	2064
ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr 690	ctg ccc cca tcc cgg gat Leu Pro Pro Ser Arg Asp 695	700	2112
gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 705	tgc ctg gtc aaa ggc ttc Cys Leu Val Lys Gly Phe 710	715	2160
tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu 720	agc aat ggg cag ccg gag Ser Asn Gly Gln Pro Glu 725	730	2208
aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu 740	gac tcc gac ggc tcc ttc Asp Ser Asp Gly Ser Phe 745	750	2256
ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys 755	agc agg tgg cag cag ggg Ser Arg Trp Gln Gln Gly 760	765	2304
aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac			2352

Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr		
		770					775					780					
acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	tct	ccg	ggc	aaa	aaa	gat	ccc	aaa	ttt		2400
Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	Asp	Pro	Lys	Phe		
	785					790				795							
tgg	gtg	ctg	gtg	gtg	gtt	ggc	gga	gtc	ctg	gct	tgc	tat	agc	ttg	cta		2448
Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu		
800					805					810					815		
gta	aca	gtg	gcc	ttt	att	att	ttc	tgg	gtg	agg	agt	aag	agg	agc	agg		2496
Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg		
			820					825						830			
ctc	ctg	cac	agt	gac	tac	atg	aac	atg	act	ccc	cgc	cgc	ccc	ggg	ccc		2544
Leu	Leu	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro		
			835				840						845				
acc	cgc	aag	cat	tac	cag	gcc	tat	gcc	gcc	gca	cgc	gac	ttc	gca	gcc		2592
Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Ala	Tyr	Ala	Ala	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala		
		850					855					860					
tat	cgc	tcc	ctg	aga	gtg	aag	ttc	agc	agg	agc	gca	gac	gcc	ccc	gcg		2640
Tyr	Arg	Ser	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala		
	865					870					875						
tac	cag	cag	ggc	cag	aac	cag	ctc	tat	aac	gag	ctc	aat	cta	gga	cga		2688
Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg		
880					885					890					895		
aga	gag	gag	tac	gat	gtt	ttg	gac	aag	aga	cgt	ggc	cgg	gac	cct	gag		2736
Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu		
				900					905					910			
atg	ggg	gga	aag	ccg	aga	agg	aag	aac	cct	cag	gaa	ggc	ctg	tac	aat		2784
Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn		
			915					920					925				
gaa	ctg	cag	aaa	gat	aag	atg	gcg	gag	gcc	tac	agt	gag	att	ggg	atg		2832
Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met		
		930					935					940					
aaa	ggc	gag	cgc	cgg	agg	ggc	aag	ggg	cac	gat	ggc	ctt	tac	cag	ggc		2880
Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly		
	945					950					955						
ctc	agt	aca	gcc	acc	aag	gac	acc	tac	gac	gcc	ctt	cac	atg	cag	gcc		2928
Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala		
960					965					970					975		
ctg	ccc	cct	cgc	taa													2943
Leu	Pro	Pro	Arg														

<210> 14
 <211> 978
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> constructo sintético

ES 2 833 162 T5

<400> 14

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

Ala Ser Val Ile Met Ser Arg Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser
20 25 30

Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys
35 40 45

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Arg
50 55 60

Arg Pro Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser
65 70 75 80

Gly Cys Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr
85 90 95

Ala Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr
100 105 110

Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly
115 120 125

Asn Tyr Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
130 135 140

Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Ser Val Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr
165 170 175

Ser Val Gly Asp Arg Val Asn Val Thr Tyr Lys Ala Ser Gln Asn Val
180 185 190

Gly Thr Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys
195 200 205

Val Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg
210 215 220

Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn
225 230 235 240

ES 2 833 162 T5

Val	Gln	Ser	Glu	Asp	Leu	Ala	Glu	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	His	Thr		
				245					250					255			
Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Ser		
			260					265					270				
Asp	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly		
		275					280					285					
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
	290					295					300						
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Val	His	Ser	Gln	Val		
305					310					315					320		
Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Arg	Pro	Ser	Gln	Thr	Leu		
				325					330					335			
Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Gly	Tyr	Ser		
			340					345					350				
Trp	His	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly		
		355					360					365					
Tyr	Ile	Gln	Tyr	Ser	Gly	Ile	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser		
	370					375					380						
Arg	Val	Thr	Met	Leu	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Arg		
385					390					395					400		
Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg		
				405					410					415			
Glu	Asp	Tyr	Asp	Tyr	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr		
			420					425					430				
Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
		435					440					445					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu		
	450					455					460						
Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	Thr	Ser	Ser		
465					470					475					480		
Ser	Val	Ser	Tyr	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro		
				485					490					495			

ES 2 833 162 T5

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
 500 505 510

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
 515 520 525

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser
 530 535 540

Ser Tyr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Val Asp
 545 550 555 560

Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 565 570 575

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 580 585 590

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 595 600 605

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 610 615 620

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 625 630 635 640

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 645 650 655

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 660 665 670

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 675 680 685

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 690 695 700

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 705 710 715 720

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 725 730 735

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 740 745 750

ES 2 833 162 T5

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
755 760 765

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
770 775 780

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe Trp Val
785 790 795 800

Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
805 810 815

Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu
820 825 830

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
835 840 845

Lys His Tyr Gln Ala Tyr Ala Ala Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
850 855 860

Ser Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
865 870 875 880

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
885 890 895

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
900 905 910

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
915 920 925

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
930 935 940

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
945 950 955 960

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
965 970 975

Pro Arg

<210> 15

<211> 25

<212> PRT

<213> artificial

<220>
<223> péptido sintético

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(20)
<223> SVFLFPPKPKDTL

10 <400> 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Met Ile Ser Arg Thr
20 25

15 <210> 16
<211> 24
<212> PRT
<213> artificial

20 <220>
<223> péptido sintético

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(19)
25 <223> SVFLFPPKPKDTL

<400> 16

Pro Pro Val Ala Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Met Ile Ala Arg Thr
20

30 <210> 17
<211> 2901
<212> ADN
<213> artificial

35 <220>
<223> molécula sintética

40 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(2901)

<400> 17

atg gat ttt cag gtg cag att ttc agc ttc ctg cta atc agt gcc tca
45 Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser

48

ES 2 833 162 T5

1	5	10	15	
gtc ata atg tct	aga cag gtg aag	ctg cag cag tct	ggg act gtg ctg	96
Val Ile Met Ser	Arg Gln Val Lys	Leu Gln Gln Ser	Gly Thr Val Leu	
20	25	30		
gca agg cct ggg	gct tcc gtg aag	atg tcc tgc aag	gct tct ggc tac	144
Ala Arg Pro Gly	Ala Ser Val Lys	Met Ser Cys Lys	Ala Ser Gly Tyr	
35	40	45		
agg ttt acc aac	tac tgg atg cac	tgg gta aaa cag	agg cct gga cag	192
Arg Phe Thr Asn	Tyr Trp Met His	Trp Val Lys Gln	Arg Pro Gly Gln	
50	55	60		
ggg cta gaa tgg	att ggt gtt att	tat cct gga aat	agt gat act agc	240
Gly Leu Glu Trp	Ile Gly Val Ile	Tyr Pro Gly Asn	Ser Asp Thr Ser	
65	70	75	80	
tac aac cag aag	ttc aag ggc aag	gcc aaa ctg act	gca gtc aca tcc	288
Tyr Asn Gln Lys	Phe Lys Gly Lys	Ala Lys Leu Thr	Ala Val Thr Ser	
85	90	95		
gcc agc act gcc	tac atg gag ctc	agc agc ctg aca	aat gag gac tct	336
Ala Ser Thr Ala	Tyr Met Glu Leu	Ser Ser Leu Thr	Asn Glu Asp Ser	
100	105	110		
gcg gtc tat tac	tgt aca aga gag	gga gaa ggc tct	gac tac tgg ggc	384
Ala Val Tyr Tyr	Cys Thr Arg Glu	Gly Glu Gly Ser	Asp Tyr Trp Gly	
115	120	125		
caa ggg acc acg	gtc acc gtc tcc	tca ggt gga ggc	ggt tca ggc gga	432
Gln Gly Thr Thr	Val Thr Val Ser	Ser Gly Gly Gly	Gly Ser Gly Gly	
130	135	140		
ggg ggc tct ggc	ggt ggc gga tgc	caa att gtt ctc	acc cag tct cca	480
Gly Gly Ser Gly	Gly Gly Gly Ser	Gln Ile Val Leu	Thr Gln Ser Pro	
145	150	155	160	
gca acc atg gct	gca tct ccc ggg	gag aag atc act	atc acc tgc agt	528
Ala Thr Met Ala	Ala Ser Pro Gly	Glu Lys Ile Thr	Ile Thr Cys Ser	
165	170	175		
gcc agc tca agt	ata agt tcc aat	tac ttg cat tgg	tat cag cag aag	576
Ala Ser Ser Ser	Ile Ser Ser Asn	Tyr Leu His Trp	Tyr Gln Gln Lys	
180	185	190		
cca gga ttc tcc	cct aaa ctc ttg	att tat agg act	tcc aat ctg gct	624
Pro Gly Phe Ser	Pro Lys Leu Leu	Ile Tyr Arg Thr	Ser Asn Leu Ala	
195	200	205		
tct gga gtc cca	gct cgc ttc agt	ggc agt ggg tct	ggg acc tct tac	672
Ser Gly Val Pro	Ala Arg Phe Ser	Gly Ser Gly Ser	Gly Thr Ser Tyr	
210	215	220		
tct ctc aca att	ggc acc atg gag	gct gaa gat gtt	gcc act tac tac	720
Ser Leu Thr Ile	Gly Thr Met Glu	Ala Glu Asp Val	Ala Thr Tyr Tyr	
225	230	235	240	
tgc cag cag ggt	agt agt ata ccg	tac acg ttc gga	ggg ggg acc aag	768
Cys Gln Gln Gly	Ser Ser Ile Pro	Tyr Thr Phe Gly	Gly Gly Gly Thr	Lys
245	250	255		
ctg gag ctg gcg	gcc gca gga ggc	ggg ggt tct ggt	gga ggc gga agc	816

Leu	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
			260					265					270			
ggt	ggc	ggg	ggt	tca	gga	ggc	ggg	ggt	tcc	ggt	ggt	ggc	ggc	agt	ggt	864
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
		275					280					285				
ggt	ggc	ggc	agt	ggt	ggt	ggc	ggc	agt	ggt	ggt	ggc	ggc	agt	ggt	gtc	912
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Val	
	290					295					300					
cac	tcc	cag	gtc	caa	ctg	cag	gag	tca	ggt	cca	ggt	ctt	gtg	aga	cct	960
His	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Arg	Pro	
305					310				315						320	
agc	cag	acc	ctg	agc	ctg	acc	tgc	acc	gtg	tct	ggc	ttc	acc	atc	agc	1008
Ser	Gln	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Thr	Ile	Ser	
				325					330					335		
agt	ggt	tat	agc	tgg	cac	tgg	gtg	aga	cag	cca	cct	gga	cga	ggt	ctt	1056
Ser	Gly	Tyr	Ser	Trp	His	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	
			340					345					350			
gag	tgg	att	gga	tac	ata	cag	tac	agt	ggt	atc	act	aac	tac	aac	ccc	1104
Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Gln	Tyr	Ser	Gly	Ile	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	
		355					360					365				
tct	ctc	aaa	agt	aga	gtg	aca	atg	ctg	gta	gac	acc	agc	aag	aac	cag	1152
Ser	Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Met	Leu	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	
	370					375					380					
ttc	agc	ctg	aga	ctc	agc	agc	gtg	aca	gcc	gcc	gac	acc	gcg	gtc	tat	1200
Phe	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	
385					390					395					400	
tat	tgt	gca	aga	gaa	gac	tat	gat	tac	cac	tgg	tac	ttc	gat	gtc	tgg	1248
Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	Asp	Tyr	Asp	Tyr	His	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	
				405					410					415		
ggc	caa	ggg	acc	acg	gtc	acc	gtc	tcc	tca	gga	ggt	ggt	gga	tcg	ggc	1296
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	
			420					425					430			
ggt	ggc	ggg	tcg	ggt	ggc	ggc	gga	tct	gac	atc	cag	ctg	acc	cag	agc	1344
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	
		435					440					445				
cca	agc	agc	ctg	agc	gcc	agc	gtg	ggt	gac	aga	gtg	acc	atc	acc	tgt	1392
Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	
	450					455					460					
agt	acc	agc	tcg	agt	gta	agt	tac	atg	cac	tgg	tac	cag	cag	aag	cca	1440
Ser	Thr	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Tyr	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	
	465				470					475					480	
ggt	aag	gct	cca	aag	ctg	ctg	atc	tac	agc	aca	tcc	aac	ctg	gct	tct	1488
Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	
				485					490					495		
ggt	gtg	cca	agc	aga	ttc	agc	ggt	agc	ggt	agc	ggt	acc	gac	ttc	acc	1536
Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	
			500					505					510			

ttc acc atc agc agc ctc cag cca gag gac atc gcc acc tac tac tgc	1584
Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys	
515 520 525	
cat cag tgg agt agt tat ccc acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gag	1632
His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu	
530 535 540	
atc aaa gtg gat ccc gcc gag ccc aaa tct cct gac aaa act cac aca	1680
Ile Lys Val Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr	
545 550 555 560	
tgc cca ccg tgc cca gca cct cca gtc gcg gga ccg tca gtc ttc ctc	1728
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu	
565 570 575	
ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc gcc cgg acc cct gag	1776
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu	
580 585 590	
gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag	1824
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys	
595 600 605	
ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag	1872
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys	
610 615 620	
ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc	1920
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu	
625 630 635 640	
acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag	1968
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys	
645 650 655	
gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa	2016
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys	
660 665 670	
gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc	2064
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser	
675 680 685	
cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa	2112
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys	
690 695 700	
ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag	2160
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln	
705 710 715 720	
ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc	2208
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly	
725 730 735	
tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag	2256
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln	
740 745 750	
cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac	2304
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn	
755 760 765	

cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa aaa gat ccc His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro 770 775 780	2352
aaa ttt tgg gtg ctg gtg gtg gtt ggt gga gtc ctg gct tgc tat agc Lys Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser 785 790 795 800	2400
ttg cta gta aca gtg gcc ttt att att ttc tgg gtg agg agt aag agg Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg 805 810 815	2448
agc agg ctc ctg cac agt gac tac atg aac atg act ccc cgc cgc ccc Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro 820 825 830	2496
ggg ccc acc cgc aag cat tac cag gcc tat gcc gcc gca cgc gac ttc Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Ala Tyr Ala Ala Arg Asp Phe 835 840 845	2544
gca gcc tat cgc tcc ctg aga gtg aag ttc agc agg agc gca gac gcc Ala Ala Tyr Arg Ser Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala 850 855 860	2592
ccc gcg tac cag cag ggc cag aac cag ctc tat aac gag ctc aat cta Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu 865 870 875 880	2640
gga cga aga gag gag tac gat gtt ttg gac aag aga cgt ggc cgg gac Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp 885 890 895	2688
cct gag atg ggg gga aag ccg aga agg aag aac cct cag gaa ggc ctg Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu 900 905 910	2736
tac aat gaa ctg cag aaa gat aag atg gcg gag gcc tac agt gag att Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile 915 920 925	2784
ggg atg aaa ggc gag cgc cgg agg ggc aag ggg cac gat ggc ctt tac Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr 930 935 940	2832
cag ggt ctc agt aca gcc acc aag gac acc tac gac gcc ctt cac atg Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met 945 950 955 960	2880
cag gcc ctg ccc cct cgc taa Gln Ala Leu Pro Pro Arg 965	2901

<210> 18
 <211> 966
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> constructo sintético

<400> 18

ES 2 833 162 T5

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

ES 2 833 162 T5

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

ES 2 833 162 T5

500	505	510
Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys 515 520 525		
His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu 530 535 540		
Ile Lys Val Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr 545 550 555 560		
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu 565 570 575		
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu 580 585 590		
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys 595 600 605		
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys 610 615 620		
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu 625 630 635 640		
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys 645 650 655		
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys 660 665 670		
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser 675 680 685		
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys 690 695 700		
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln 705 710 715 720		
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly 725 730 735		
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln 740 745 750		

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
755 760 765

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro
770 775 780

Lys Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
785 790 795 800

Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg
805 810 815

Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro
820 825 830

Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Ala Tyr Ala Ala Ala Arg Asp Phe
835 840 845

Ala Ala Tyr Arg Ser Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
850 855 860

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
865 870 875 880

Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
885 890 895

Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
900 905 910

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
915 920 925

Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
930 935 940

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
945 950 955 960

Gln Ala Leu Pro Pro Arg
965

<210> 19

<211> 2937

5 <212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> molécula sintética

10

ES 2 833 162 T5

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2937)

5 <400> 19

atg gat ttt cag gtg cag att ttc agc ttc ctg cta atc agt gcc tca	48
Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser	
1 5 10 15	
gtc ata atg tct aga atg gcc cag gtg caa ctg cag cag tca ggg gct	96
Val Ile Met Ser Arg Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala	
20 25 30	
gag ctg gct aga cct ggg gct tca gtg aag atg tcc tgc aag gct tct	144
Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser	
35 40 45	
ggc tac acc ttt act acc tac aca ata cac tgg gta aga cgg agg cct	192
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Arg Arg Pro	
50 55 60	
gga cac gat ctg gaa tgg att gga tac att aat cct agc agt gga tgt	240
Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Cys	
65 70 75 80	
tct gac tac aat caa aac ttc aag ggc aag acc aca ttg act gca gac	288
Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp	
85 90 95	
aag tcc tcc aac aca gcc tac atg caa ctg aac agc ctg aca tct gag	336
Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu	
100 105 110	
gac tct gcg gtc tat tac tgt gca aga aga gcg gac tat ggt aac tac	384
Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr	
115 120 125	
gaa tat acc tgg ttt gct tac tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc	432
Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val	
130 135 140	
tcc tca agt gga ggc ggt tca ggt gga ggt ggc tct ggc ggt ggc gga	480
Ser Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	
145 150 155 160	
tcg gtc atc gag ctc act cag tct cca aaa ttc atg tcc aca tca gta	528
Ser Val Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val	
165 170 175	
gga gac agg gtc aac gtc acc tac aag gcc agt cag aat gtg ggt act	576
Gly Asp Arg Val Asn Val Thr Tyr Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr	
180 185 190	
aat gta gcc tgg ttt caa caa aaa cca ggg caa tct cct aaa gtt ctg	624
Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu	
195 200 205	
att tac tcg gca tct tac cga tac agt gga gtc cct gat cgc ttc aca	672
Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr	
210 215 220	

ggc agt gga tct gga aca gat ttc act ctc acc atc agc aat gtg cag Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln 225 230 235 240	720
tct gaa gac ttg gca gag tat ttc tgt cag caa tat cac acc tat cct Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro 245 250 255	768
ctc acg ttc gga ggg ggc acc aag ctg gaa atc aaa cgg gcg gcc gct Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala 260 265 270	816
ggt ggc ggg gga tct gga gga ggt ggt tcc gga gga ggt ggt tca gga Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly 275 280 285	864
ggt ggc ggc tcc gga gga ggt gga tca gga ggc ggt ggc agc ggc ggc Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly 290 295 300	912
gga gga tct ggt ggc ggt ggc tcc gtc gac atg gcg cag gtc cag ctc Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Val Asp Met Ala Gln Val Gln Leu 305 310 315 320	960
cag gag tcc ggc gga ggc ctg gtg cag cca ggc ggg tcc ctg aag ctg Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu 325 330 335	1008
agc tgt gct gca tcc ggt ttt acc ttt tcc agt tac gga atg tcc tgg Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp 340 345 350	1056
gtt cgc cag acc ccc gat aag cgg ctg gaa ctg gtg gcg aca atc aac Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Leu Val Ala Thr Ile Asn 355 360 365	1104
tcc aat ggc gga tct act tat tac cca gat tct gtt aaa ggc cgt ttt Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe 370 375 380	1152
acc atc tcc agg gat aac gcc aaa aac acc ctg tat ctg cag atg tct Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser 385 390 395 400	1200
tct ttg aag agt gag gac act gct atg tac tat tgc gcc cgg gat cgt Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg 405 410 415	1248
gac ggc tac gat gaa ggt ttc gac tac tgg gga cag ggc aca acc gtc Asp Gly Tyr Asp Glu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val 420 425 430	1296
act gtc tct tcc ggc ggt ggt ggc agc ggc ggc ggg gga agc ggc ggg Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly 435 440 445	1344
ggt ggt tcc gac atc gag ctc acc caa tcc ccc tcc atc atg tcc gcc Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ile Met Ser Ala 450 455 460	1392
tcc cca ggc gag aag gtc acc atg acc tgc tct gct tct tcc tcc gtg Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val 465 470 475 480	1440

tct tac atg cat tgg tac cag cag aaa tct ggt acc tct ccg aaa cgc	1488
Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg	
485 490 495	
tgg atc tat gac acc tct aag ttg gct tcc ggg gtg cca gcc cgg ttc	1536
Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe	
500 505 510	
tct ggc agc gga agt gga acc tcc tac tcc ctc act att tct tct atg	1584
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met	
515 520 525	
gag gct gaa gac gcc gcg acc tat tat tgt cag caa tgg agc agc aac	1632
Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn	
530 535 540	
ccc cct act ctg ggg cgc cgt act cag ctg cag ctg aaa cgc gcg gat	1680
Pro Pro Thr Leu Gly Arg Arg Thr Gln Leu Gln Leu Lys Arg Ala Asp	
545 550 555 560	
ccc gcc gag ccc aaa tct cct gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc	1728
Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys	
565 570 575	
cca gca cct cca gtc gcg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa	1776
Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys	
580 585 590	
ccc aag gac acc ctc atg atc gcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg	1824
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val	
595 600 605	
gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac	1872
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr	
610 615 620	
gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag	1920
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu	
625 630 635 640	
cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac	1968
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His	
645 650 655	
cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa	2016
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys	
660 665 670	
gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag	2064
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln	
675 680 685	
ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg	2112
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu	
690 695 700	
acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc	2160
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro	
705 710 715 720	
agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac	2208
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn	

ES 2 833 162 T5

725	730	735	
tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu 740 745 750			2256
tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val 755 760 765			2304
ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln 770 775 780			2352
aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa aaa gat ccc aaa ttt tgg gtg Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe Trp Val 785 790 800			2400
ctg gtg gtg gtt ggt gga gtc ctg gct tgc tat agc ttg cta gta aca Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr 805 810 815			2448
gtg gcc ttt att att ttc tgg gtg agg agt aag agg agc agg ctc ctg Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu 820 825 830			2496
cac agt gac tac atg aac atg act ccc cgc cgc ccc ggg ccc acc cgc His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg 835 840 845			2544
aag cat tac cag gcc tat gcc gcc gca cgc gac ttc gca gcc tat cgc Lys His Tyr Gln Ala Tyr Ala Ala Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg 850 855 860			2592
tcc ctg aga gtg aag ttc agc agg agc gca gac gcc ccc gcg tac cag Ser Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln 865 870 875 880			2640
cag ggc cag aac cag ctc tat aac gag ctc aat cta gga cga aga gag Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu 885 890 895			2688
gag tac gat gtt ttg gac aag aga cgt ggc cgg gac cct gag atg ggg Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly 900 905 910			2736
gga aag ccg aga agg aag aac cct cag gaa ggc ctg tac aat gaa ctg Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu 915 920 925			2784
cag aaa gat aag atg gcg gag gcc tac agt gag att ggg atg aaa ggc Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly 930 935 940			2832
gag cgc cgg agg ggc aag ggg cac gat ggc ctt tac cag ggt ctc agt Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser 945 950 955 960			2880
aca gcc acc aag gac acc tac gac gcc ctt cac atg cag gcc ctg ccc Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro 965 970 975			2928
cct cgc taa Pro Arg			2937

ES 2 833 162 T5

<210> 20
 <211> 978
 <212> PRT
 <213> artificial

5

<220>
 <223> constructo sintético

<400> 20

10

```

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

Val Ile Met Ser Arg Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala
          20          25          30

Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser
          35          40          45

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Arg Arg Pro
50          55          60

Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Cys
65          70          75          80

Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp
          85          90          95

Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu
          100          105          110

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

Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
130          135          140

Ser Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145          150          155          160

Ser Val Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val
          165          170          175

Gly Asp Arg Val Asn Val Thr Tyr Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr
          180          185          190

Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu

```

ES 2 833 162 T5

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

Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ile Met Ser Ala
 450 455 460

Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val
 465 470 475 480

Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg
 485 490 495

Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe
 500 505 510

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met
 515 520 525

Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn
 530 535 540

Pro Pro Thr Leu Gly Arg Arg Thr Gln Leu Gln Leu Lys Arg Ala Asp
 545 550 555 560

Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 565 570 575

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 580 585 590

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 595 600 605

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 610 615 620

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 625 630 635 640

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 645 650 655

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 660 665 670

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 675 680 685

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 690 695 700

ES 2 833 162 T5

Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	705	710	715	720
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	725	730	735	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	740	745	750	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	755	760	765	
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	770	775	780	
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	Asp	Pro	Lys	Phe	Trp	Val	785	790	795	800
Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	805	810	815	
Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	820	825	830	
His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	835	840	845	
Lys	His	Tyr	Gln	Ala	Tyr	Ala	Ala	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	850	855	860	
Ser	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	865	870	875	880
Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	885	890	895	
Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	900	905	910	
Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	915	920	925	
Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	930	935	940	
Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	945	950	955	960

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
 965 970 975

Pro Arg

<210> 21

<211> 3006

5 <212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> molécula sintética

10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2985)

15 <400> 21

atg gat ttt cag gtg cag att ttc agc ttc ctg cta atc agt gcc tca	48
Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser	
1 5 10 15	
gtc ata atg tct aga atg gcc cag gtg caa ctg cag cag tca ggg gct	96
Val Ile Met Ser Arg Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala	
20 25 30	
gag ctg gct aga cct ggg gct tca gtg aag atg tcc tgc aag gct tct	144
Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser	
35 40 45	
ggc tac acc ttt act acc tac aca ata cac tgg gta aga cgg agg cct	192
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Arg Arg Pro	
50 55 60	
gga cac gat ctg gaa tgg att gga tac att aat cct agc agt gga tgt	240
Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Cys	
65 70 75 80	
tct gac tac aat caa aac ttc aag ggc aag acc aca ttg act gca gac	288
Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp	
85 90 95	
aag tcc tcc aac aca gcc tac atg caa ctg aac agc ctg aca tct gag	336
Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu	
100 105 110	
gac tct gcg gtc tat tac tgt gca aga aga gcg gac tat ggt aac tac	384
Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Asp Tyr Gly Asn Tyr	
115 120 125	
gaa tat acc tgg ttt gct tac tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc	432
Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val	
130 135 140	
tcc tca agt gga ggc ggt tca ggt gga ggt ggc tct ggc ggt ggc gga	480
Ser Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	
145 150 155 160	

ES 2 833 162 T5

tcg gtc atc gag ctc act cag tct cca aaa ttc atg tcc aca tca gta	528
Ser Val Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val	
165 170 175	
gga gac agg gtc aac gtc acc tac aag gcc agt cag aat gtg ggt act	576
Gly Asp Arg Val Asn Val Thr Tyr Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr	
180 185 190	
aat gta gcc tgg ttt caa caa aaa cca ggg caa tct cct aaa gtt ctg	624
Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu	
195 200 205	
att tac tcg gca tct tac cga tac agt gga gtc cct gat cgc ttc aca	672
Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr	
210 215 220	
ggc agt gga tct gga aca gat ttc act ctc acc atc agc aat gtg cag	720
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln	
225 230 235 240	
tct gaa gac ttg gca gag tat ttc tgt cag caa tat cac acc tat cct	768
Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro	
245 250 255	
ctc acg ttc gga ggg ggc acc aag ctg gaa atc aaa cgg gcg gcc gca	816
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala	
260 265 270	
gga ggc ggg ggt tct ggt gga ggc gga agc ggt ggc ggg ggt tca gga	864
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly	
275 280 285	
ggc ggg ggt tcc ggt ggt ggc ggc agt ggt ggt ggc ggc agt ggt ggt	912
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly	
290 295 300	
ggc ggc agt ggt ggt ggc ggc agt gtc gac ggt gtc cac tcc cag gtg	960
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Asp Gly Val His Ser Gln Val	
305 310 315 320	
cag att ttc agc ttc ctg cta atc agt gcc tca gtc ata atg tct aga	1008
Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser Val Ile Met Ser Arg	
325 330 335	
atg gcc cag gtg aag ctg cag cag tct ggc gct gag ttg gtg aaa cct	1056
Met Ala Gln Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro	
340 345 350	
ggg gct tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct ggc tac acc ttc act	1104
Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	
355 360 365	
gac cat gct att cac tgg gcg aag cag aag cct gaa cag ggc ctg gaa	1152
Asp His Ala Ile His Trp Ala Lys Gln Lys Pro Glu Gln Gly Leu Glu	
370 375 380	
tgg att gga tat att tct ccc gga aat gat gat att aag tac aat gag	1200
Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Pro Gly Asn Asp Asp Ile Lys Tyr Asn Glu	
385 390 395 400	
aag ttc aag ggc aag gcc aca ctg act gca gac aaa tcc tcc agc act	1248
Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr	

ES 2 833 162 T5

405	410	415	
gcc tac atg cag ctc aac agc ctg aca tct gag gat tct gca gtg tat Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr 420 425 430			1296
ttc tgt aaa aga tcg tac tac ggc cac tgg ggc caa ggc acc acg gtc Phe Cys Lys Arg Ser Tyr Tyr Gly His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val 435 440 445			1344
acc gtc tcc tca ggt gga ggc ggt tca ggc gga ggt ggc tct ggc ggt Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly 450 455 460			1392
ggc gga tcg gac atc gag ctc act cag tct cca gcc tcc tta tct gta Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val 465 470 475 480			1440
tct gtg gga gaa act gtc acc atc aca tgt cga gca agt gag aat att Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile 485 490 495			1488
tac agt aat tta gca tgg tac caa cag aaa cag gga aaa tct cct cag Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln 500 505 510			1536
ctc ctg gtc tat gct gca aca aac tta gca gat ggt gtg cca tca agg Leu Leu Val Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg 515 520 525			1584
ttc agt ggc agt gga tcg ggc aca cag tat tcc ctc aag atc aac agc Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser 530 535 540			1632
ctg cag tct gaa gat ttt ggg agt tat tac tgt caa cat ttt tgg ggt Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly 545 550 555 560			1680
act ccg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gag ctg aaa gtg gat Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Val Asp 565 570 575			1728
ccc gcc gag ccc aaa tct cct gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys 580 585 590			1776
cca gca cct cca gtc gcg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys 595 600 605			1824
ccc aag gac acc ctc atg atc gcc cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val 610 615 620			1872
gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr 625 630 635 640			1920
gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag gag Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu 645 650 655			1968
cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac			2016

ES 2 833 162 T5

Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
			660					665						670		
cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	2064
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
		675					680					685				
gcc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	2112
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
	690					695					700					
ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gat	gag	ctg	2160
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	
705					710					715					720	
acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	2208
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
			725					730					735			
agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	2256
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
			740				745					750				
tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	2304
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
	755					760					765					
tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	gtc	2352
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
	770					775					780					
ttc	tca	tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	2400
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
785					790					795					800	
aag	agc	ctc	tcc	ctg	tct	ccg	ggt	aaa	aaa	gat	ccc	aaa	ttt	tgg	gtg	2448
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	Asp	Pro	Lys	Phe	Trp	Val	
			805					810						815		
ctg	gtg	gtg	gtt	ggt	gga	gtc	ctg	gct	tgc	tat	agc	ttg	cta	gta	aca	2496
Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	
			820					825					830			
gtg	gcc	ttt	att	att	ttc	tgg	gtg	agg	agt	aag	agg	agc	agg	ctc	ctg	2544
Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	
	835					840						845				
cac	agt	gac	tac	atg	aac	atg	act	ccc	cgc	cgc	ccc	ggg	ccc	acc	cgc	2592
His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	
	850					855					860					
aag	cat	tac	cag	gcc	tat	gcc	gcc	gca	cgc	gac	ttc	gca	gcc	tat	cgc	2640
Lys	His	Tyr	Gln	Ala	Tyr	Ala	Ala	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	
	865				870				875						880	
tcc	ctg	aga	gtg	aag	ttc	agc	agg	agc	gca	gac	gcc	ccc	gcg	tac	cag	2688
Ser	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	
			885					890						895		
cag	ggc	cag	aac	cag	ctc	tat	aac	gag	ctc	aat	cta	gga	cga	aga	gag	2736
Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	
			900					905					910			

gag tac gat gtt ttg gac aag aga cgt ggc cgg gac cct gag atg ggg 2784
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
915 920 925

gga aag ccg aga agg aag aac cct cag gaa ggc ctg tac aat gaa ctg 2832
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
930 935 940

cag aaa gat aag atg gcg gag gcc tac agt gag att ggg atg aaa ggc 2880
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
945 950 955 960

gag cgc cgg agg ggc aag ggg cac gat ggc ctt tac cag ggt ctc agt 2928
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
965 970 975

aca gcc acc aag gac acc tac gac gcc ctt cac atg cag gcc ctg ccc 2976
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
980 985 990

cct cgc taa tcctcgagag atccggatta g 3006
Pro Arg

<210> 22
<211> 994
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> constructo sintético

<400> 22

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

Val Ile Met Ser Arg Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala
20 25 30

Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser
35 40 45

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Thr Ile His Trp Val Arg Arg Arg Pro
50 55 60

Gly His Asp Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Cys
65 70 75 80

Ser Asp Tyr Asn Gln Asn Phe Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp
85 90 95

Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu
100 105 110

ES 2 833 162 T5

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

Glu Tyr Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
130 135 140

Ser Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Ser Val Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val
165 170 175

Gly Asp Arg Val Asn Val Thr Tyr Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr
180 185 190

Asn Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Val Leu
195 200 205

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

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

Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr His Thr Tyr Pro
245 250 255

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala
260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
290 295 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Asp Gly Val His Ser Gln Val
305 310 315 320

Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser Val Ile Met Ser Arg
325 330 335

Met Ala Gln Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro
340 345 350

Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
355 360 365

Asp His Ala Ile His Trp Ala Lys Gln Lys Pro Glu Gln Gly Leu Glu
 370 375 380

Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Pro Gly Asn Asp Asp Ile Lys Tyr Asn Glu
 385 390 395 400

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr
 405 410 415

Ala Tyr Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr
 420 425 430

Phe Cys Lys Arg Ser Tyr Tyr Gly His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 435 440 445

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 450 455 460

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

Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile
 485 490 495

Tyr Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln
 500 505 510

Leu Leu Val Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg
 515 520 525

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser
 530 535 540

Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly
 545 550 555 560

Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Val Asp
 565 570 575

Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 580 585 590

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 595 600 605

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 610 615 620

ES 2 833 162 T5

Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
625					630					635					640	
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
				645					650					655		
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
			660					665					670			
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
		675					680					685				
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
	690					695					700					
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	
705					710					715					720	
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
				725					730					735		
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
			740					745					750			
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
		755					760					765				
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
	770					775					780					
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
785					790					795					800	
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	Asp	Pro	Lys	Phe	Trp	Val	
				805					810					815		
Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	
			820					825					830			
Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	
		835					840					845				
His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	
	850					855					860					
Lys	His	Tyr	Gln	Ala	Tyr	Ala	Ala	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	

ES 2 833 162 T5

865		870		875		880									
Ser	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln
				885					890					895	
Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu
			900					905					910		
Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly
		915					920					925			
Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu
	930					935					940				
Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly
945					950					955					960
Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser
				965					970					975	
Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro
			980					985					990		
Pro	Arg														

REIVINDICACIONES

1. Polipéptido recombinante que es un receptor de antígeno quimérico (CAR) que contiene al menos los siguientes dominios en orden, comenzando desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal:
 - a.) un primer dominio que contiene i) la unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 y ii) una unidad de anticuerpo que es una unidad de anticuerpo de scFv que se une específicamente a un antígeno asociado a tumor presente en la superficie de una célula diana predeterminada;
 - b.) opcionalmente, un dominio espaciador;
 - c.) un dominio transmembrana; y
 - d.) un dominio de señalización citoplásmica.
2. Polipéptido recombinante que es un CAR que contiene al menos los siguientes dominios en orden, comenzando desde el extremo N-terminal hasta el extremo C-terminal:
 - a.) un primer dominio que contiene i) una unidad de anticuerpo que es una unidad de anticuerpo de scFv que se une específicamente a un antígeno asociado a tumor presente en la superficie de una célula diana predeterminada; y ii) una unidad de anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2,
 - b.) opcionalmente, un dominio espaciador;
 - c.) un dominio transmembrana; y
 - d.) un dominio de señalización citoplásmica.
3. Polipéptido recombinante que es un CAR según la reivindicación 1 ó 2, que comprende además una secuencia líder que se ubica de manera N-terminal con respecto al primer dominio.
4. Polipéptido recombinante que es un CAR según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dominio espaciador es un dominio CH2 CH3 de IgG1 de SEQ ID NO: 6 u homólogos del mismo que tiene al menos el 95% de identidad con el mismo.
5. Polipéptido recombinante que es un CAR según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dominio transmembrana se deriva de CD28.
6. Polipéptido recombinante que es un CAR según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dominio intracelular contiene un CD3zeta o una cadena de señalización de I-gamma del receptor de Fc-épsilon o una unidad coestimuladora.
7. Polipéptido recombinante que es un CAR según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el dominio intracelular es un dominio de señalización de CD28.
8. Polipéptido recombinante que es un CAR según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la unidad de anticuerpo de scFv se une a un antígeno asociado a tumor seleccionado de antígeno carcinoembrionario (CEA), CA19-9, CA72-4 (TAG-72), PSCA, Muc-1, HMW-MAA, melanotransferrina p97, receptor de acetilcolina fetal, ErbB2 (Her2/neu), proteína de resistencia a múltiples fármacos (MDR), CD19, CD20 y TOSO.
9. Molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. Vector que comprende la secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 9.
11. Célula aislada que contiene un vector según la reivindicación 10 o una molécula de ácido nucleico según la reivindicación 9.
12. Célula aislada según la reivindicación 11, que es una célula T que expresa en su superficie el CAR según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
13. Célula T aislada que expresa en su superficie

a.) un primer receptor de antígeno quimérico que tiene en su dominio extracelular el anticuerpo anti-CD30 de cadena sencilla de HRS3-scFv de SEQ ID NO: 2 y

5 b.) un segundo receptor de antígeno quimérico que tiene en su dominio extracelular una unidad de anticuerpo que es una unidad de anticuerpo de scFv que se une específicamente a un antígeno asociado a tumor presente en la superficie de una célula diana predeterminada.

14. Célula T aislada según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 13, para su uso en el tratamiento de
10 cáncer, mediante lo cual dicho cáncer es un cáncer que expresa el antígeno al que se dirige el anticuerpo del antígeno antitumoral.

Composición modular de CAR con doble especificidad CEA/CD30

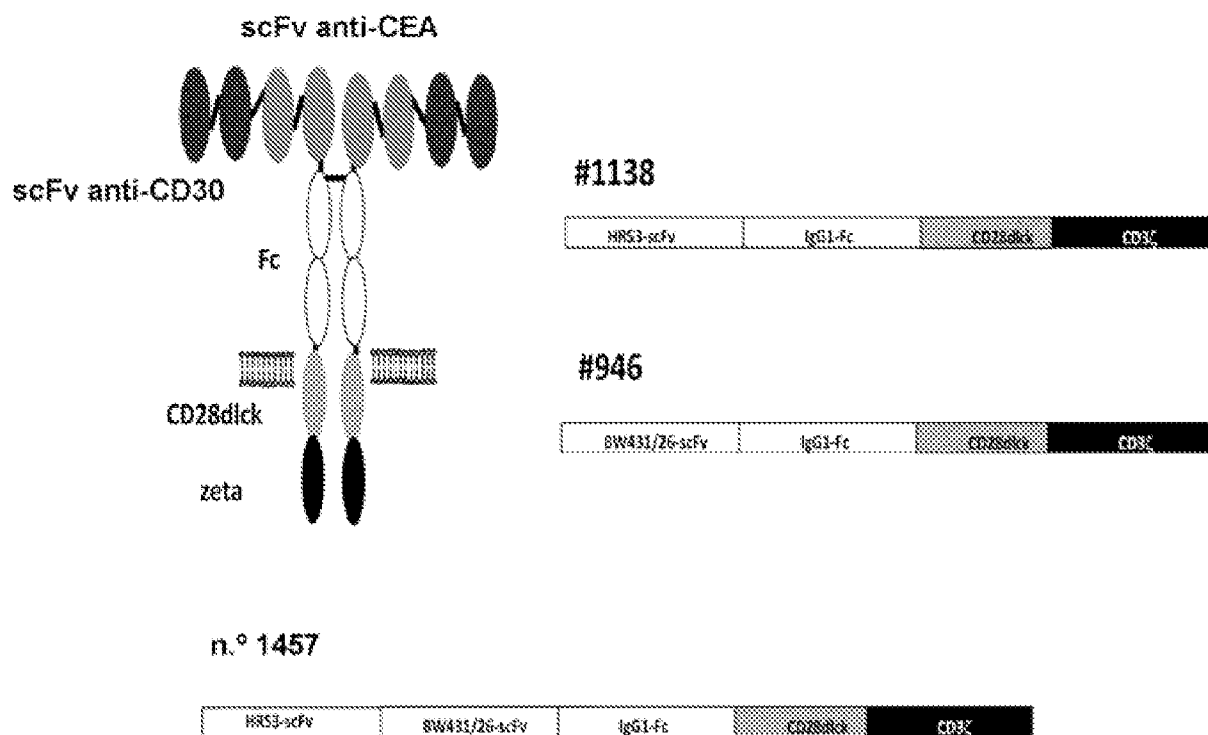


Figura 1

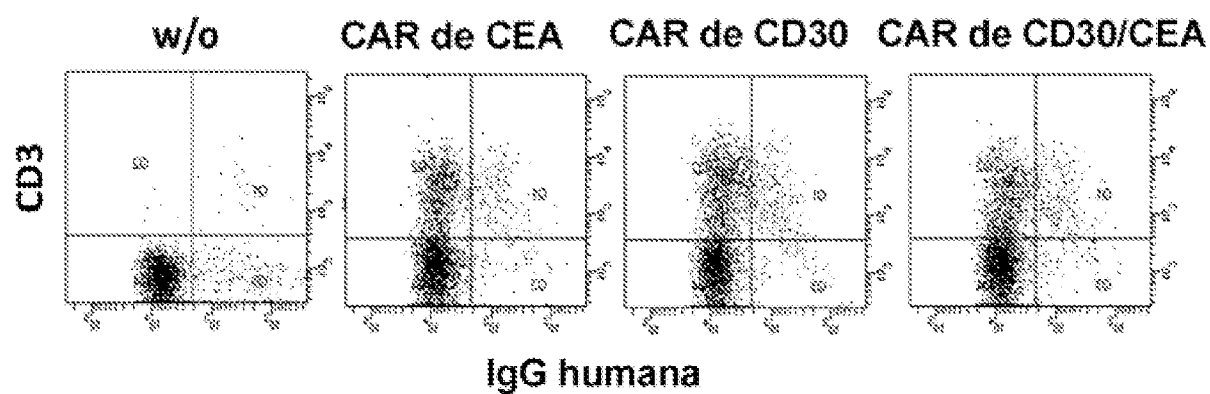


Figura 2

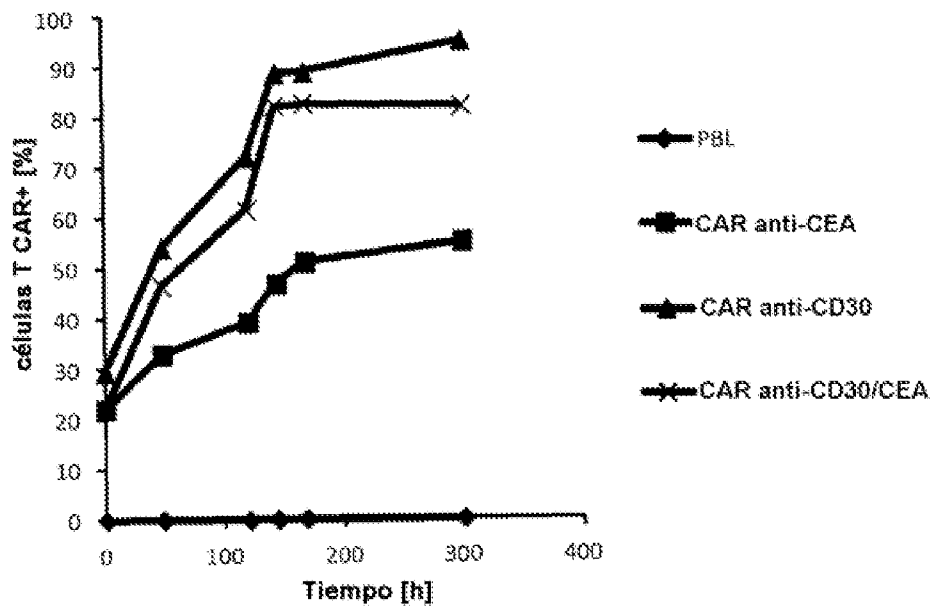


Figura 3

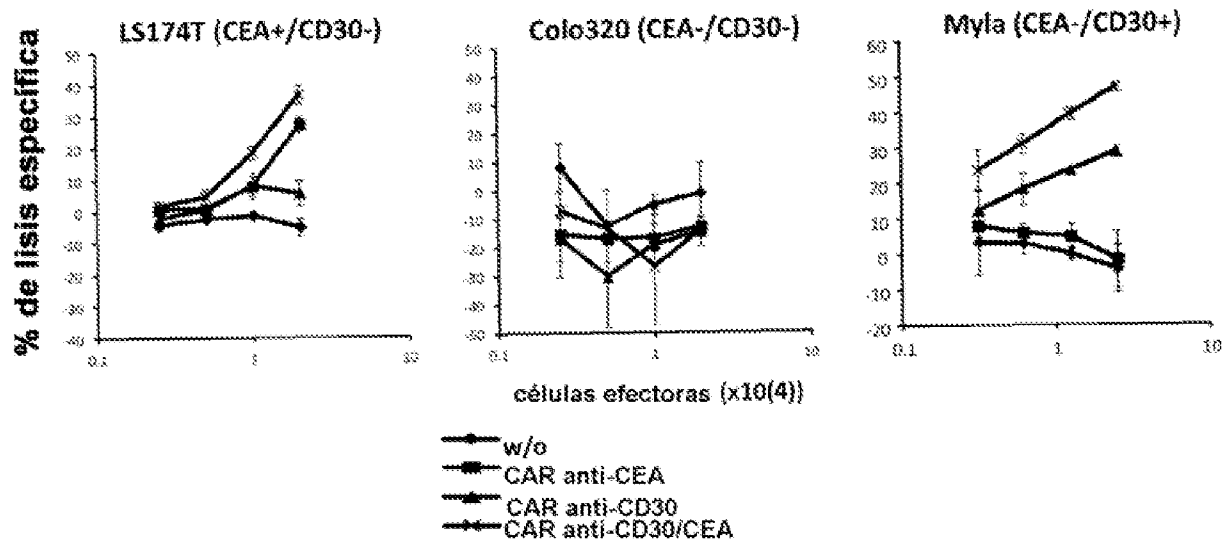


Figura 4

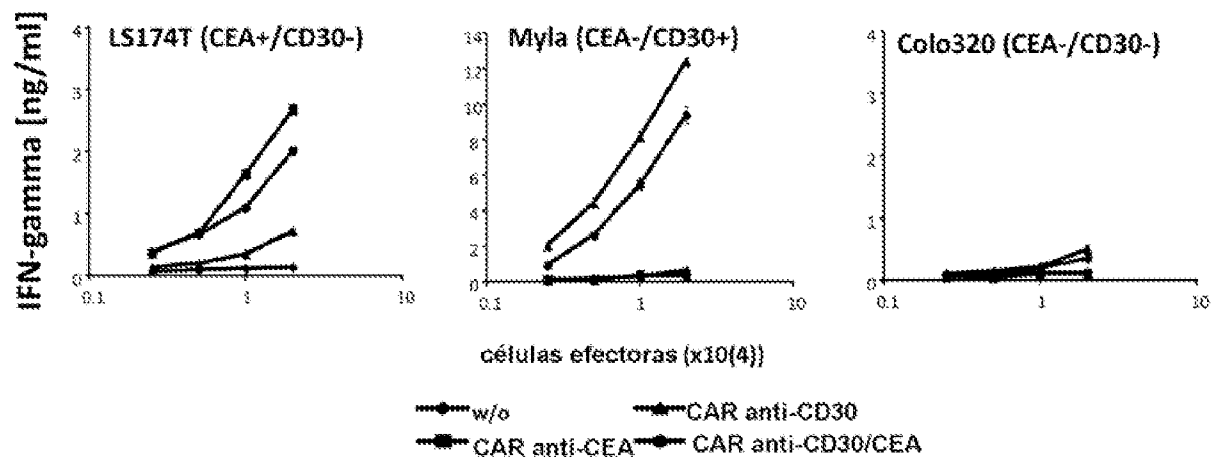


Figura 5

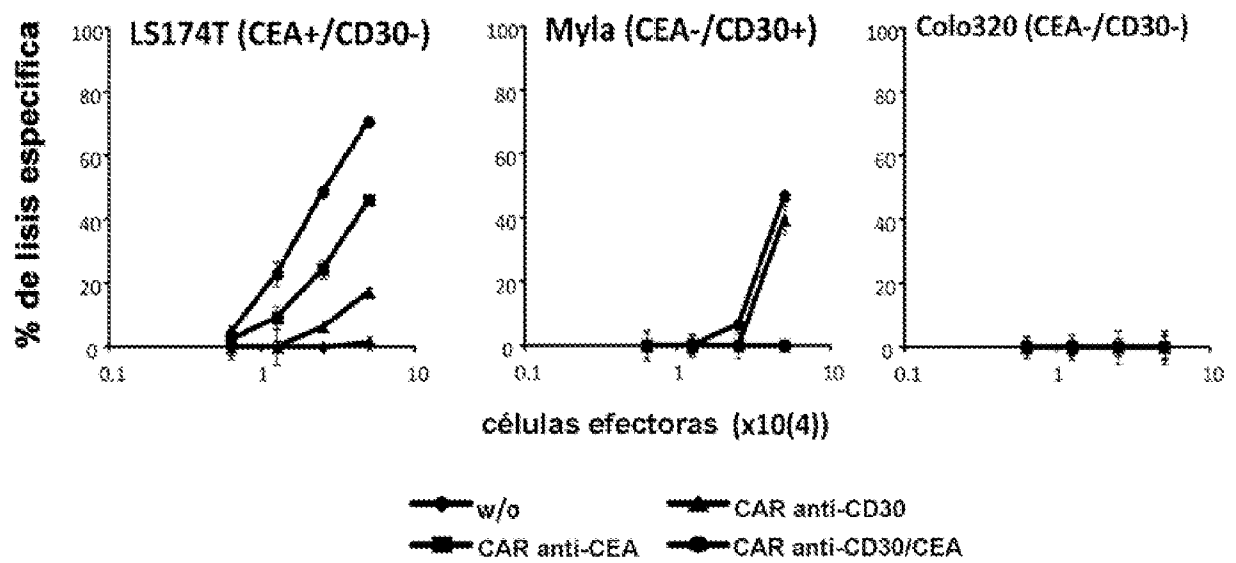


Figura 6

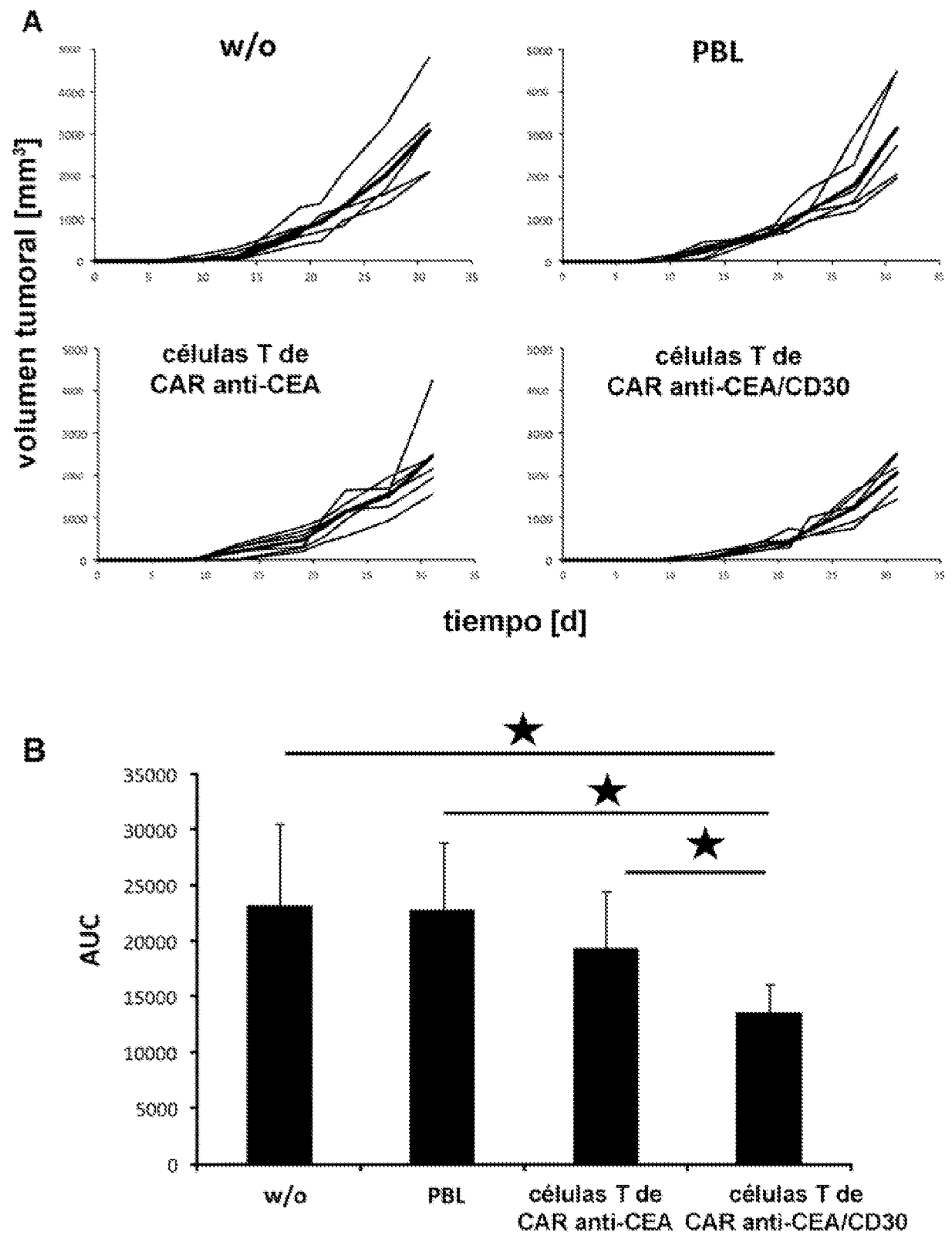


Figura 7

A

n.º 946: CAR anti-CEA

BW431/26-scFv	IgG1-Fc	CD28dick	CD3ζ
---------------	---------	----------	------

n.º 1457: CAR anti-CD30/CEA

HRS3-scFv	BW431/26-scFv	IgG1-Fc	CD28dick	CD3ζ
-----------	---------------	---------	----------	------

n.º 1576: CAR anti-CD25/CEA

anti-CD25	BW431/26-scFv	IgG1-Fc	CD28dick	CD3ζ
-----------	---------------	---------	----------	------

B

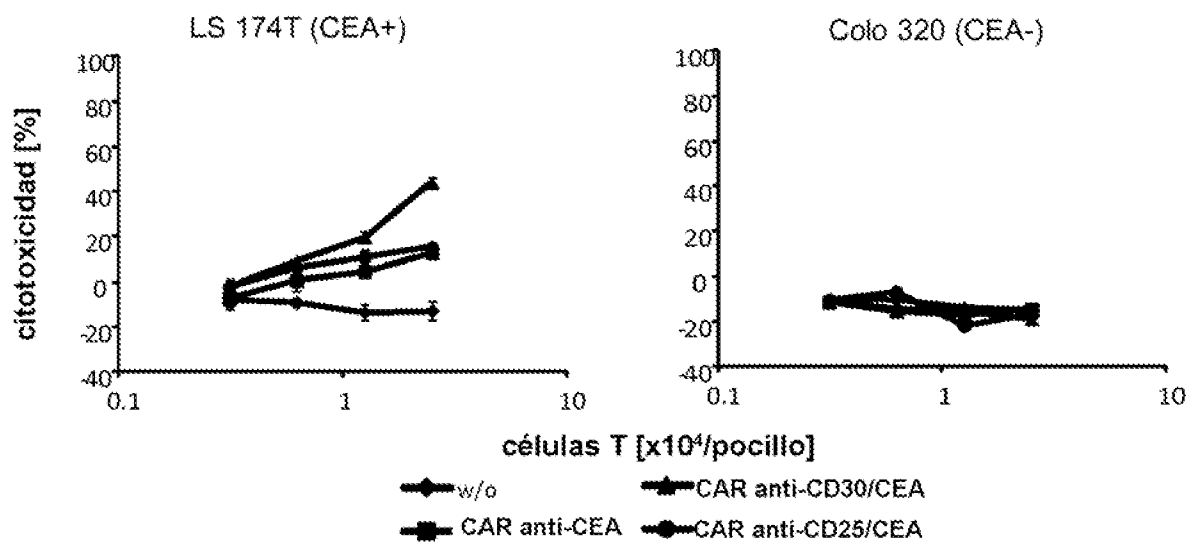


Figura 8

A

n.º 1587: CAR anti-CD30/Muc1

HRS3-scFv	C595-scFv	IgG1-Fc	CD28dick	CD3 ζ
-----------	-----------	---------	----------	-------------

n.º 1650: CAR anti-CD30/TAG-72

HRS3-scFv	B72.3-scFv	IgG1-Fc	CD28dick	CD3 ζ
-----------	------------	---------	----------	-------------

B

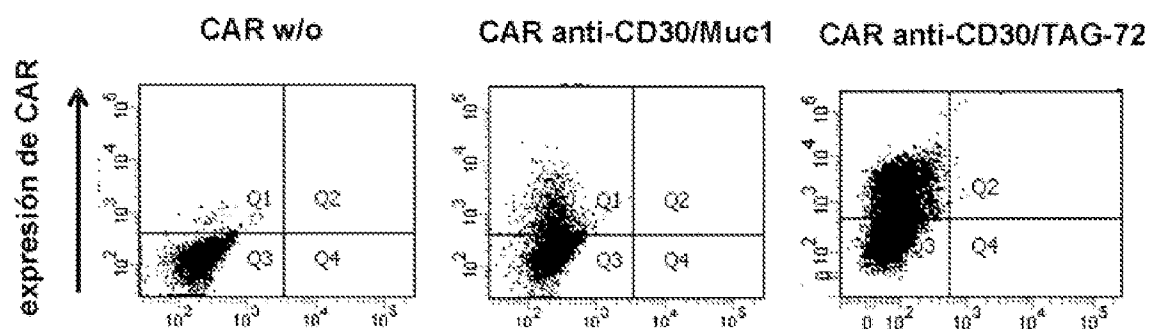


Figura 9