República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019019426-6 A2

BR112019019426A2

(22) Data do Depósito: 22/03/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 26/05/2020

(54) Título: BIOMARCADORES E TERAPIAS COM CÉLULAS T CAR COM EFICÁCIA INTENSIFICADA

(51) Int. Cl.: A61K 39/00; C07K 16/28.

(30) Prioridade Unionista: 22/03/2017 US 62/474,991; 24/01/2018 US 62/621,356.

(71) Depositante(es): NOVARTIS AG; THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA.

(72) Inventor(es): JOSEPH A. FRAIETTA; JAN J. MELENHORST.

(86) Pedido PCT: PCT US2018023785 de 22/03/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/175733 de 27/09/2018

(85) Data da Fase Nacional: 18/09/2019

(57) Resumo: A invenção refere-se a composições e métodos aperfeiçoados de terapias com célula T CAR. Especificamente, a invenção proporciona células com expressão e/ou função alteradas de um ou mais genes, por exemplo, associados a Tet2, e seus métodos de uso. A invenção ainda proporciona inibidores do um ou mais genes e métodos de uso dos mesmos em conexão com células T CAR.

FIG. 1A

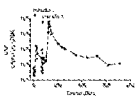


FIG. 1B

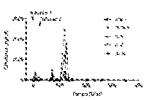


FIG. 1C

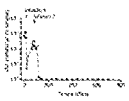


FIG. 1D



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"BIOMARCADORES E TERAPIAS COM CÉLULAS T CAR COM EFICÁCIA INTENSIFICADA".**

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

[0001] Este pedido reivindica prioridade para o Pedido U.S. Nº. de Série 62/474,991, depositado em 22 de março, 2017, e Pedido U.S. Nº. de Série 62/621,356, depositado em 24 de janeiro, 2018. O conteúdo dos pedidos acima mencionados é incorporado aqui por referência na sua totalidade.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[0002] O presente pedido contém uma Listagem de Sequências que foi submetida eletronicamente em formato ASCII e é deste modo incorporada por referência na sua totalidade. A dita cópia ASCII, criada a 20 de março, 2018, chama-se N2067-7125WO_SL.txt e tem 509 059 bytes de tamanho.

CAMPO DA INVENÇÃO

[0003] A presente invenção refere-se geralmente a uso de células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) manipuladas para expressarem um Receptor de Antígenos Quimérico (CAR) para tratar uma doença associada a expressão de um antígeno tumoral.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[0004] A terapia de transferência adotiva de células (ACT) com células T autólogas, especialmente com células T transduzidas com Receptores de Antígenos Quiméricos (CARs), demonstrou ser promissora em ensaios de cânceres hematológicos. Há uma necessidade médica de terapias com células T, especialmente terapias com células T CAR com eficácia melhorada.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0005] A presente invenção proporciona, pelo menos em parte,

composições e métodos que procedem à disrupção de um ou mais genes associados a um gene metilcitosina dioxigenase, por exemplo, Tet2, e usos de tais composições e métodos para aumentar as atividades funcionais de células manipuladas (por exemplo, células T específicas para antígenos com genes modificados, tais como células T CAR). Em particular, a presente invenção proporciona métodos e composições para reforçar a eficácia terapêutica de células T expressando receptores de antígenos quiméricos (CAR). Embora não pretendendo ficar restringido pela teoria, se crê que, em certas modalidades, a alteração de um ou mais genes descritos aqui pode conduzir, por exemplo, a um fenótipo de memória central e, desse modo, aumenta a proliferação e/ou função de células T CAR.

[0006] Em conformidade, em um aspecto, a presente invenção proporciona uma célula (por exemplo, uma população de células), por exemplo, uma célula efetora imune, expressando um receptor de antígenos quimérico (CAR), em que o CAR compreende um domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular, e em que a célula tem expressão e/ou função alteradas de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2).

[0007] Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um primeiro gene associado a Tet2 e expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um segundo gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, a célula tem adicionalmente expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de Tet2.

[0008] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2

compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou todos os) genes escolhidos de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou todos os) genes escolhidos de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0009] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende PRDM1.

[0010] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e NOTCH2. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IL2RA e PRDM1.

[0011] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS, IL2RA e PRDM1.

[0012] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28,

IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28 e ICOS.

[0013] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS e IL2RA. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, IL2RA e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1.

[0014] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1.

[0015] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2

compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 8. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 8, Coluna B. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 8, Coluna A.

[0016] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna D. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna D. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna D.

[0017] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes em uma via (por exemplo, uma ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) vias) escolhidas da Tabela 9, Coluna A. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna A. Em algumas modalidades, a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna A.

[0018] Em algumas modalidades, a via é escolhida de uma ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou todas) de: (1) uma via de diferenciação de leucócitos; (2) uma via de regulação positiva do processo do sistema imune; (3) uma via de

sinalização de proteína tirosina quinase receptora de transmembrana; (4) uma via de regulação da morfogênese da estrutura anatômica; (5) uma via de sinalização de TNFA através de NFKB; (6) uma via de regulação positiva da atividade de hidrolase; (7) uma via de cicatrização de feridas; (8) uma via de ativação de células T alfa-beta; (9) uma via de regulação do movimento de componentes celulares; (10) uma via da resposta inflamatória; (11) uma via de diferenciação de células mieloides; (12) uma via de produção de citocinas; (13) uma via de subregulação em resposta a UV; (14) uma via de regulação negativa do processo de organismos multicelulares; (15) uma via da morfogênese de vasos sanguíneos; (16) uma via de transcrição dependente de NFAT; (17) uma via de regulação positiva do processo apoptótico; (18) uma via de hipoxia; (19) uma via de sobrerregulação por sinalização de KRAS; ou (20) uma via da cascata de sinalização de proteína quinase ativada pelo estresse.

[0019] Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de diferenciação de leucócitos são escolhidos da Tabela 9, Linha 1. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de regulação positiva do processo do sistema imune são escolhidos da Tabela 9, Linha 56. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de sinalização de proteína tirosina quinase receptora de transmembrana são escolhidos da Tabela 9, Linha 85. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de regulação da morfogênese da estrutura anatômica são escolhidos da Tabela 9, Linha 128. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de sinalização de TNFA através de NFKB são escolhidos da Tabela 9, Linha 134. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de regulação positiva da atividade de hidrolase são escolhidos da Tabela 9, Linha 137. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma

via de cicatrização de feridas são escolhidos da Tabela 9, Linha 141. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de ativação de células T alfa-beta são escolhidos da Tabela 9, Linha 149. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de regulação do movimento de componentes celulares são escolhidos da Tabela 9, Linha 180. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via da resposta inflamatória são escolhidos da Tabela 9, Linha 197. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de diferenciação de células mieloides são escolhidos da Tabela 9, Linha 206. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de produção de citocinas são escolhidos da Tabela 9, Linha 221. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de subregulação em resposta a UV são escolhidos da Tabela 9, Linha 233. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de regulação negativa do processo de organismos multicelulares são escolhidos da Tabela 9, Linha 235. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via da morfogênese de vasos sanguíneos são escolhidos da Tabela 9, Linha 237. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de transcrição dependente de NFAT são escolhidos da Tabela 9, Linha 243. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de regulação positiva do processo apoptótico são escolhidos da Tabela 9, Linha 250. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de hipoxia são escolhidos da Tabela 9, Linha 256. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via de sobrerregulação por sinalização de KRAS são escolhidos da Tabela 9, Linha 258. Em algumas modalidades, o um ou mais genes associados a uma via da cascata de sinalização de proteína quinase ativada pelo estresse são escolhidos da Tabela 9, Linha 260.

[0020] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende um gene (por exemplo, um ou mais genes) associado a um fenótipo de memória central. Em algumas modalidades, o fenótipo de memória central é um fenótipo de células T de memória central. Em algumas modalidades, o fenótipo de memória central compreende um nível de expressão mais elevado de CCR7 e/ou CD45RO em comparação com o nível de expressão de CCR7 e/ou CD45RO em uma célula virgem (por exemplo, uma célula T virgem). Em algumas modalidades, o fenótipo de memória central compreende um nível de expressão mais baixo de CD45RA em comparação com o nível de expressão de CD45RA em uma célula virgem (por exemplo, uma célula T virgem). Em algumas modalidades, o fenótipo de memória central compreende proliferação intensificada dependente de antígenos da célula. Em algumas modalidades, o fenótipo de memória central compreende um nível de expressão reduzido de IFN-γ e/ou CD107a, por exemplo, quando a célula é ativada com um anticorpo anti-CD3 ou anti-CD28.

[0021] Em algumas modalidades, a célula compreende um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) do gene associado a Tet2.

[0022] Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor ou ativador) é (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene associado a Tet2 ou um seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico codificando um ou mais componentes do referido sistema de edição genética; ou (3) uma sua combinação. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética é selecionado do grupo consistindo em: um sistema CRISPR/Cas9, um sistema de nucleases dedo de zinco, um sistema TALEN e um sistema de meganucleases. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron inicial do

gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo do gene associado a Tet2, e a sequência-alvo está a montante do éxon 4, por exemplo, no éxon 1, éxon 2 ou éxon 3. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron tardio do gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo do gene associado a Tet2, e a sequência-alvo está a jusante de um pré-antepenúltimo éxon, por exemplo, está em um antepenúltimo éxon, um penúltimo éxon ou um último éxon. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética é um sistema CRISPR/Cas compreendendo uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento que hibrida com uma sequência-alvo do gene associado a Tet2.

[0023] Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor) é um siRNA ou shRNA específico para o gene associado a Tet2, ou ácido nucleico codificando o referido siRNA ou shRNA. Em algumas modalidades, o siRNA ou shRNA compreende uma sequência complementar a uma sequência de um mRNA do gene associado a Tet2.

[0024] Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor ou ativador) é uma molécula pequena.

[0025] Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor ou ativador) é uma proteína. Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor) é um parceiro de ligação negativo dominante de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2, ou um ácido nucleico codificando o referido parceiro de ligação negativo dominante. Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor) é uma variante negativa dominante (por exemplo, cataliticamente inativa) de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2, ou um ácido nucleico codificando a referida variante negativa dominante.

[0026] Em algumas modalidades, a célula compreende um inibidor de um primeiro gene associado a Tet2 e um ativador de um segundo gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, a célula também compreende um inibidor de Tet2.

[0027] Em um aspecto, a presente invenção proporciona uma célula (por exemplo, uma população de células), por exemplo, uma célula efetora imune, expressando um receptor de antígenos quimérico (CAR), por exemplo, uma célula expressando CAR, em que o CAR compreende um domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular, e em que a célula expressando CAR tem uma disrupção de Tet2, por exemplo, expressão e/ou função alteradas de Tet2.

[0028] Em algumas modalidades, uma célula expressando CAR com uma disrupção em Tet2, por exemplo, como descrito aqui, tem uma, duas, três, quatro ou mais (por exemplo, todas) das seguintes características:

(i) potencial de expansão aumentado, por exemplo, pelo menos 1,5, 2, 3, 4, 5 ou 6 vezes a expansão medida por um ensaio do Exemplo 1;

(ii) um ou mais propriedades de células T de memória de vida curta, por exemplo, expressão aumentada de EOMES, expressão decrescida de KLRG1, atividade citotóxica aumentada ou potencial aumentado de células T de memória medido por um ensaio do Exemplo 1;

(iii) função efetora aumentada, por exemplo, desgranulação aumentada de CD107a, granzima B e perforina medida por um ensaio do Exemplo 1;

(iv) atividade citolítica aumentada medida por um ensaio do Exemplo 1; ou

(v) capacidade proliferativa aumentada, por exemplo,

medida por Ki67 aumentado, medido por um ensaio do Exemplo 1, em comparação com uma célula expressando CAR em tudo o mais idêntica ou similar com Tet2 sem disrupção, por exemplo, Tet2 de tipo selvagem.

[0029] Em algumas modalidades, a célula expressando CAR com uma disrupção de Tet2 tem uma disrupção monoalélica de Tet2, por exemplo, a célula tem um alelo de Tet2 com disrupção (por exemplo, como descrito aqui) e um alelo de Tet2 de tipo selvagem.

[0030] Em algumas modalidades, a célula expressando CAR com uma disrupção de Tet2 tem uma disrupção bialélica de Tet2, por exemplo, a célula tem dois alelos de Tet2 com disrupção (por exemplo, como descrito aqui).

[0031] Em algumas modalidades, a disrupção de Tet2 na célula efetora imune ou célula expressando CAR é produzida por uma mutação que altera, por exemplo, reduz, a função de Tet2, por exemplo, uma mutação hipomórfica, por exemplo, uma mutação E1879Q como descrito aqui. Em algumas modalidades, a mutação hipomórfica em Tet2, por exemplo, E1879Q, origina uma proteína Tet2 que tem função reduzida em comparação com uma proteína Tet2 produzida por um alelo de Tet2 de tipo selvagem, como descrito em um ensaio do Exemplo 1.

[0032] Em algumas modalidades, a disrupção de Tet2 na célula efetora imune ou célula expressando CAR é produzida por integração lentiviral, por exemplo, integração de um lentivírus codificando uma molécula CAR, no gene Tet2, por exemplo, no promotor, íntrons ou éxons do gene Tet2, por exemplo, como descrito no Exemplo 1.

[0033] Em algumas modalidades, a disrupção de Tet2, por exemplo, como descrito aqui, é produzida na população de células efetoras imunes de uma população de células expressando CAR por contato da população de células com um inibidor de Tet2, por exemplo, um inibidor de molécula pequena de Tet 2 (por exemplo, 2-hidroxiglutarato); um

lentivírus (por exemplo, um lentivírus codificando uma molécula CAR como descrito aqui); uma isoforma de Tet2 negativa dominante, ou um ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo dominante; um agente de RNAi visando Tet2 (por exemplo, siRNA ou shRNA); um CRISPR-Cas9 visando Tet2; ou um ZFN/TALEN visando Tet2.

[0034] Em algumas modalidades, a disrupção de Tet2 produzida por quaisquer dos métodos revelados aqui pode ser monoalélica ou bialélica. Em algumas modalidades, uma disrupção de Tet2 produzida em uma célula por quaisquer dos métodos revelados aqui é monoalélica, por exemplo, a célula tem um alelo de Tet2 com disrupção e um alelo de Tet2 de tipo selvagem. Em algumas modalidades, uma disrupção de Tet2 produzida em uma célula por quaisquer dos métodos revelados aqui é bialélica, por exemplo, a célula tem dois alelos de Tet2 com disrupção, por exemplo, duas disrupções diferentes, por exemplo, como descrito aqui.

[0035] Em algumas modalidades, uma disrupção de Tet2 está presente na população de células efetoras imunes, por exemplo, antes da expressão de uma molécula CAR. Em algumas modalidades, uma população de células efetoras imunes compreende um alelo de Tet2 com disrupção, por exemplo, uma disrupção monoalélica de Tet2 como descrito aqui, por exemplo, um alelo de Tet2 hipomórfico monoalélico.

[0036] Em algumas modalidades, uma população de células efetoras imunes compreendendo um alelo de Tet2 com disrupção, por exemplo, um alelo de Tet2 hipomórfico, é contatada com um inibidor de Tet2, por exemplo, um inibidor de molécula pequena de Tet 2 (por exemplo, 2-hidroxiglutarato); um lentivírus (por exemplo, um lentivírus codificando uma molécula CAR como descrito aqui); uma isoforma de Tet2 negativa dominante; ou um ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo dominante; um agente RNAi visando Tet2; um CRISPR-Cas9 visando Tet2; ou um ZFN/TALEN visando Tet2, desse modo

procedendo à disrupção do alelo de Tet2 de tipo selvagem resultando, por exemplo, em disrupção bialélica de Tet2.

[0037] Em algumas modalidades de quaisquer das composições reveladas aqui, o domínio de ligação a antígenos se liga a um antígeno tumoral selecionado de um grupo consistindo em: TSHR, CD19, CD123, CD22, CD30, CD171, CS-1, CLL-1, CD33, EGFRvIII, GD2, GD3, BCMA, Tn Ag, PSMA, ROR1, FLT3, FAP, TAG72, CD38, CD44v6, CEA, EPCAM, B7H3, KIT, IL-13Ra2, Mesotelina, IL-11Ra, PSCA, PRSS21, VEGFR2, LewisY, CD24, PDGFR-beta, SSEA-4, CD20, Receptor de folato alfa, ERBB2 (Her2/neu), MUC1, EGFR, NCAM, Prostase, PAP, ELF2M, Efrina B2, receptor de IGF-I, CAIX, LMP2, gp100, bcr-abl, tirosinase, EphA2, Fucosil GM1, sLe, GM3, TGS5, HMWMAA, o-acetil-GD2, Receptor de folato beta, TEM1/CD248, TEM7R, CLDN6, GPRC5D, CXORF61, CD97, CD179a, ALK, Ácido polissiálico, PLAC1, GloboH, NY-BR-1, UPK2, HAVCR1, ADRB3, PANX3, GPR20, LY6K, OR51E2, TARP, WT1, NY-ESO-1, LAGE-1a, MAGE-A1, legumaína, HPV E6,E7, MAGE A1, ETV6-AML, proteína do esperma 17, XAGE1, Tie 2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, antígeno relacionado com Fos 1, p53, p53 mutante, prosteína, survivina e telomerase, PCTA-1/Galectina 8, MelanA/MART1, Ras mutante, hTERT, pontos de quebra de translocação de sarcoma, ML-IAP, ERG (gene de fusão TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, Receptor de andrógenos, Ciclina B1, MYCN, RhoC, TRP-2, CYP1B1, BORIS, SART3, PAX5, OY-TES1, LCK, AKAP-4, SSX2, RAGE-1, transcriptase reversa de telomerase humana, RU1, RU2, carboxil-esterase intestinal, hsp70-2 mut, CD79a, CD79b, CD72, LAIR1, FCAR, LILRA2, CD300LF, CLEC12A, BST2, EMR2, LY75, GPC3, FCRL5 e IGLL1.

[0038] Em algumas modalidades de quaisquer das composições reveladas aqui, o antígeno tumoral é CD19.

[0039] Em algumas modalidades de quaisquer das composições

reveladas aqui, o domínio de ligação a antígenos é um anticorpo ou fragmento de anticorpo como descrito, por exemplo, em WO2012/079000 ou WO2014/153270. Em algumas modalidades, o domínio de transmembrana compreende: uma sequência de aminoácidos tendo pelo menos uma, duas ou três modificações, mas não mais do que 20, 10 ou 5 modificações de uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 12, ou uma sequência com 95-99% de identidade com uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 12; ou a sequência de SEQ ID Nº: 12. Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos é conetado ao domínio de transmembrana por a região de dobradiça, em que a referida região de dobradiça compreende SEQ ID Nº: 2 ou SEQ ID Nº: 6, ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquelas.

[0040] Em algumas modalidades de quaisquer das composições reveladas aqui, o domínio de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização primário e/ou um domínio de sinalização coestimulador, em que o domínio de sinalização primário compreende um domínio de sinalização funcional de uma proteína escolhida de CD3 zeta, CD3 gama, CD3 delta, CD3 épsilon, FcR gama comum (FCER1G), FcR beta (Fc Épsilon R1b), CD79a, CD79b, Fcgama RIIa, DAP10 ou DAP12.

[0041] Em algumas modalidades de quaisquer das composições reveladas aqui, o domínio de sinalização primário compreende: uma sequência de aminoácidos tendo pelo menos uma, duas ou três modificações mas não mais do que 20, 10 ou 5 modificações de uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20 ou uma sequência com 95-99% de identidade com uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20; ou a sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20.

[0042] Em algumas modalidades de quaisquer das composições

reveladas aqui, o domínio de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização coestimulador, ou um domínio de sinalização primário e um domínio de sinalização coestimulador, em que o domínio de sinalização coestimulador compreende um domínio de sinalização funcional de uma proteína selecionada do grupo consistindo em CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno associado à função de linfócitos-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, um ligante que se liga especificamente a CD83, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), CD160, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL2R beta, IL2R gama, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11l, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, e NKG2D.

[0043] Em algumas modalidades de quaisquer das composições reveladas aqui, o domínio de sinalização coestimulador compreende uma sequência de aminoácidos tendo pelo menos uma, duas ou três modificações mas não mais do que 20, 10 ou 5 modificações de uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16, ou uma sequência com 95-99% de identidade com uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16. Em algumas modalidades, o domínio de sinalização coestimulador compreende uma sequência de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16. Em algumas modalidades, o domínio intracelular compreende a sequência de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16, e a sequência de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20, em que as sequências compreendendo o domínio de sinalização

intracelular são expressas no mesmo quadro e como uma única cadeia polipeptídica. Em algumas modalidades, a célula também compreende uma sequência líder que compreende a sequência de SEQ ID Nº: 2.

[0044] Em algumas modalidades, a célula é uma célula efetora imune (por exemplo, uma população de células efetoras imunes). Em algumas modalidades, a célula efetora imune é uma célula T ou uma célula NK. Em algumas modalidades, a célula efetora imune é uma célula T. Em algumas modalidades, a célula T é uma célula T CD4+, uma célula T CD8+ ou uma sua combinação. Em algumas modalidades, a célula é uma célula humana.

[0045] Em algumas modalidades, a célula compreende um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0046] Em algumas modalidades, o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 ou um seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico codificando um ou mais componentes do referido sistema de edição genética; ou (3) uma sua combinação. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética é selecionado do grupo consistindo em: um sistema CRISPR/Cas9, um sistema de nucleases dedo de zinco, um sistema TALEN e um sistema de meganucleases. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron inicial de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, e a sequência-alvo está a montante do éxon 4, por exemplo, no éxon1, éxon2 ou éxon3, por exemplo, no éxon 3. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron tardio de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas

modalidades, o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, e a sequência-alvo está a jusante de um pré-antepenúltimo éxon, por exemplo, está em um antepenúltimo éxon, um penúltimo éxon ou um último éxon. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética é um sistema CRISPR/Cas compreendendo uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento que hibrida com uma sequência-alvo de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0047] Em algumas modalidades, o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é um siRNA ou shRNA específico para IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, ou ácido nucleico codificando o referido siRNA ou shRNA. Em algumas modalidades, o siRNA ou shRNA compreende uma sequência complementar a uma sequência de um mRNA de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0048] Em algumas modalidades, o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é uma molécula pequena.

[0049] Em algumas modalidades, o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é uma proteína, por exemplo, é um parceiro de ligação negativo dominante de uma proteína codificada por um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, ou um ácido nucleico codificando o referido parceiro de ligação negativo dominante. Em algumas modalidades, o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é uma proteína, por exemplo, é uma variante negativa dominante (por exemplo, cataliticamente inativa) de uma proteína codificada por um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, ou um ácido nucleico codificando a referida variante negativa dominante.

[0050] Em outro aspecto, a presente invenção proporciona um

método para aumentar a eficácia terapêutica de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula descrita aqui, por exemplo, uma célula expressando CAR19 (por exemplo, CTL019 ou CTL119), compreendendo uma etapa de alterar (por exemplo, decrescer ou aumentar) a expressão e/ou função de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) na referida célula, em que o gene associado a Tet2 é escolhido de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0051] Em algumas modalidades, o método compreende alterar (por exemplo, decrescer) a expressão e/ou função de um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, o método também compreende alterar (por exemplo, decrescer) a expressão e/ou função de Tet2.

[0052] Em outro aspecto, a presente invenção proporciona um método para aumentar a eficácia terapêutica de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula descrita aqui, por exemplo, uma célula expressando CAR19 (por exemplo, CTL019 ou CTL119), compreendendo uma etapa de contatar a referida célula com um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0053] Em algumas modalidades, a referida etapa compreende contatar as referidas células com um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, o inibidor é selecionado do grupo consistindo em: (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene associado a Tet2, ou um seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico (por exemplo, um siRNA ou shRNA) que inibe a expressão do gene associado a Tet2; (3) uma proteína (por exemplo, uma negativa dominante, por exemplo, cataliticamente inativa) codificada pelo gene associado a Tet2, ou um parceiro de ligação de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2; (4) uma molécula pequena que inibe a expressão e/ou função do gene associado a Tet2; (5) um ácido nucleico codificando quaisquer de (1)-(3); e (6) qualquer combinação de (1)–(5). Em algumas modalidades, o método também compreende contatar a referida célula com um inibidor de Tet2.

[0054] Em algumas modalidades, o referido contato ocorre *ex vivo*. Em algumas modalidades, o contato ocorre *in vivo*. Em algumas modalidades, o contato ocorre *in vivo* antes da administração na célula de ácido nucleico codificando um CAR. Em algumas modalidades, o contato ocorre *in vivo* depois de as células terem sido administradas a um sujeito necessitado.

[0055] Em outro aspecto, a invenção proporciona um método para o tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo administrar ao referido sujeito uma quantidade eficaz de uma célula descrita aqui.

[0056] Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais

genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0057] Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2.

[0058] Em outro aspecto, a presente invenção proporciona um método para aumentar a eficácia terapêutica de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula descrita aqui, por exemplo, uma célula expressando CAR19 (por exemplo, CTL019 ou CTL119), compreendendo uma etapa de alterar (por exemplo, decrescer) a expressão e/ou função de Tet2 por contato da referida célula com um inibidor de Tet2.

[0059] Em algumas modalidades, o inibidor de Tet2 é escolhido de: um inibidor de molécula pequena de Tet 2 (por exemplo, 2-hidroxiglutarato); um lentivírus (por exemplo, um lentivírus codificando uma molécula CAR como descrito aqui); uma isoforma de Tet2 negativa dominante, ou um ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo dominante; um agente RNAi visando Tet2 (por exemplo, siRNA ou shRNA); um CRISPR-Cas9 visando Tet2; ou um ZFN/TALEN visando Tet2.

[0060] Em algumas modalidades, o referido contato ocorre *ex vivo*. Em algumas modalidades, o contato ocorre *in vivo*. Em algumas modalidades, o contato ocorre *in vivo* antes da administração na célula de ácido nucleico codificando um CAR. Em algumas modalidades, o contato ocorre *in vivo* depois de as células terem sido administradas a um sujeito necessitado.

[0061] Em outro aspecto, a invenção proporciona um método para o tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo administrar ao referido sujeito uma quantidade eficaz de uma célula descrita aqui.

[0062] Em outro aspecto, a invenção proporciona uma célula para uso em um método de tratamento de um sujeito necessitado, compreendendo administrar ao referido sujeito uma quantidade eficaz de uma célula descrita aqui.

[0063] Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central. Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0064] Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2, por exemplo, um inibidor de molécula pequena de Tet 2 (por exemplo, 2-hidroxiglutarato); um lentivírus (por exemplo, um lentivírus codificando uma molécula CAR como descrito aqui); uma isoforma de Tet2 negativa dominante, ou um ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo dominante; um agente RNAi visando Tet2 (por exemplo, siRNA ou shRNA); um CRISPR-Cas9 visando Tet2; ou um ZFN/TALEN visando Tet2.

[0065] Em outro aspecto, a invenção proporciona uma terapia com células expressando CAR para uso em um método de tratamento de um sujeito necessitado, compreendendo administrar ao referido sujeito a terapia com células expressando CAR e um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou

PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0066] Em algumas modalidades, o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2.

[0067] Em outro aspecto, a invenção proporciona uma terapia com células expressando CAR para uso em um método de tratamento de um sujeito necessitado, compreendendo administrar ao referido sujeito à terapia com células expressando CAR e um inibidor de Tet2.

[0068] Em algumas modalidades, o inibidor de Tet2 é escolhido de: um inibidor de molécula pequena de Tet 2 (por exemplo, 2-hidroxiglutarato); um lentivírus (por exemplo, um lentivírus codificando uma molécula CAR como descrito aqui), isoformas negativas dominantes de Tet2, e ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo dominante; um agente RNAi visando Tet2 (por exemplo, siRNA ou shRNA); um CRISPR-Cas9 visando Tet2; ou um ZFN/TALEN visando Tet2.

[0069] Em algumas modalidades, o sujeito recebe um pré-tratamento do modulador (por exemplo, inibidor) antes do início da terapia com células expressando CAR. Em algumas modalidades, o sujeito recebe tratamento concorrente com o modulador (por exemplo, inibidor) e a terapia com células expressando CAR. Em algumas modalidades, o sujeito recebe tratamento com o modulador (por exemplo, inibidor) após a terapia com células expressando CAR.

[0070] Em algumas modalidades, o sujeito tem uma doença associada a expressão de um antígeno tumoral, por exemplo, uma doença proliferativa, uma condição pré-cancerosa, um câncer e uma

indicação não relacionada com câncer associada à expressão do antígeno tumoral.

[0071] Em algumas modalidades, o câncer é um câncer hematológico ou um tumor sólido. Em algumas modalidades, o câncer é um câncer hematológico escolhido de um ou mais de leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemias agudas, leucemia linfoide aguda (ALL), leucemia linfoide aguda de células B (B-ALL), leucemia linfoide aguda de células T (T-ALL), leucemia mielógena crônica (CML), leucemia pró-linfocítica de células B, neoplasma de células blásticas dendríticas plasmocitoides, linfoma de Burkitt, linfoma difuso de grandes células B, linfoma folicular, leucemia de células pilosas, linfoma folicular de pequenas células ou grandes células, afecções linfoproliferativas malignas, linfoma MALT, linfoma de células do manto, linfoma da zona marginal, mieloma múltiplo, mielodisplasia e síndrome mielodisplásica, linfoma de não Hodgkin, linfoma de Hodgkin, linfoma plasmablástico, neoplasma de células dendríticas plasmocitoides, macroglobulinemia de Waldenstrom ou pré-leucemia.

[0072] Em algumas modalidades, o câncer é selecionado do grupo consistindo em câncer do cólon, câncer retal, carcinoma de células renais, câncer do fígado, carcinoma do pulmão de células não pequenas, câncer do intestino delgado, câncer do esófago, melanoma, câncer ósseo, câncer pancreático, câncer da pele, câncer da cabeça ou pescoço, melanoma maligno cutâneo ou intraocular, câncer uterino, câncer do ovário, câncer retal, câncer da região anal, câncer do estômago, câncer testicular, câncer uterino, carcinoma das trompas de Falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma do colo do útero, carcinoma da vagina, carcinoma da vulva, Doença de Hodgkin, linfoma de não Hodgkin, câncer do sistema endócrino, câncer da glândula tireoide, câncer da glândula paratireoide, câncer da glândula adrenal, sarcoma de tecido mole, câncer da uretra, câncer do pênis, tumores

sólidos da infância, câncer da bexiga, câncer do rim ou ureter, carcinoma da pélvis renal, neoplasma do sistema nervoso central (SNC), linfoma primário do SNC, angiogênese tumoral, tumor do eixo espinhal, glioma do tronco cerebral, adenoma da pituitária, sarcoma de Kaposi, câncer epidermoide, câncer de células escamosas, linfoma de células T, cânceres induzidos pelo ambiente, combinações dos referidos cânceres e lesões metastáticas dos referidos cânceres.

[0073] Em outro aspecto, a invenção proporciona um método de tratamento de um sujeito, compreendendo administrar ao referido sujeito um modulador (por exemplo, um inibidor ou ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A, ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central, em que o referido sujeito recebeu, está recebendo ou está prestes a receber terapia compreendendo uma célula expressando CAR.

[0074] Em algumas modalidades, o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, o método também compreende administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2.

[0075] Em outro aspecto, a invenção proporciona um método de tratamento de um sujeito, compreendendo administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2. Em algumas modalidades, o inibidor de Tet2 é escolhido de um inibidor de molécula pequena de Tet 2 (por exemplo, 2-hidroxiglutarato); um lentivírus (por exemplo, um lentivírus codificando uma molécula CAR como descrito aqui); uma isoforma de Tet2 negativa dominante, ou um ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo

dominante; um agente RNAi visando Tet2 (por exemplo, siRNA ou shRNA); um CRISPR-Cas9 visando Tet2; ou um ZFN/TALEN visando Tet2.

[0076] Em outro aspecto, a invenção proporciona um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) para uso no tratamento de um sujeito, em que o gene associado a Tet2 é escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A, ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central, e em que o referido sujeito recebeu, está recebendo ou está prestes a receber terapia compreendendo uma célula expressando CAR.

[0077] Em algumas modalidades, o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas modalidades, o sujeito recebeu, está recebendo ou está prestes a receber um inibidor de Tet2.

[0078] Ainda em outro aspecto, a invenção proporciona um inibidor de Tet2 para uso no tratamento de um sujeito, por exemplo, um sujeito com uma condição ou doença revelada aqui, em que o referido sujeito recebeu, está recebendo ou está prestes a receber terapia compreendendo uma célula expressando CAR.

[0079] Em um aspecto, é revelado aqui um método de preparação de uma população de células efetoras imunes expressando um Receptor de Antígenos Quimérico (CAR), compreendendo

a) proporcionar uma população de células efetoras imunes, por exemplo, células T;

b) contatar a população de células efetoras imunes com um ácido nucleico codificando um polipeptídeo de CAR;

c) contatar a população de células efetoras imunes com um inibidor de Tet2, por exemplo, como descrito aqui;

e

d) manter as células sob condições que permitem a expressão do polipeptídeo de CAR,

desse modo preparando uma população de células efetoras imunes expressando CAR.

[0080] Em algumas modalidades, o inibidor de Tet2 é escolhido de: um inibidor de Tet2, por exemplo, um inibidor de molécula pequena de Tet 2 (por exemplo, 2-hidroxiglutarato); um lentivírus (por exemplo, um lentivírus codificando uma molécula CAR como descrito aqui); uma isoforma de Tet2 negativa dominante, ou um ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo dominante; um agente RNAi visando Tet2 (por exemplo, siRNA ou shRNA); um CRISPR-Cas9 visando Tet2; ou um ZFN/TALEN visando Tet2.

[0081] Em algumas modalidades, uma célula expressando CAR preparada com inibidor de Tet 2 como revelado aqui tem uma, duas, três, quatro ou mais (por exemplo, todas) das seguintes características:

(i) potencial de expansão aumentado, por exemplo, pelo menos 1,5, 2, 3, 4, 5 ou 6 vezes a expansão medida por um ensaio do Exemplo 1;

(ii) um ou mais propriedades de células T de memória de vida curta, por exemplo, expressão aumentada de Eomes, expressão decrescida de KLRG1, atividade citotóxica aumentada ou potencial aumentado de células T de memória medido por um ensaio do Exemplo 1;

(iii) função efetora aumentada, por exemplo, desgranulação aumentada de CD107a, granzima B e perforina medida por um ensaio do Exemplo 1;

(iv) atividade citolítica aumentada medida por um ensaio do Exemplo 1; ou

(v) capacidade proliferativa aumentada, por exemplo, medida por Ki67 aumentado, medido por um ensaio do Exemplo 1,

em comparação com uma célula expressando CAR de outro modo similar com Tet2 sem disrupção, por exemplo, Tet2 de tipo selvagem.

[0082] Em algumas modalidades de um método de preparação revelado aqui, uma disrupção de Tet2 está presente na população de células efetoras imunes, por exemplo, antes do contato com um ácido nucleico codificando um polipeptídeo de CAR. Em algumas modalidades, a população de células efetoras imunes compreende um alelo de Tet2 com disrupção, por exemplo, uma disrupção monoalélica de Tet2 como descrito aqui, por exemplo, um alelo de Tet2 hipomórfico monoalélico. Em algumas modalidades de um método de preparação revelado aqui, o contato de uma população de células efetoras imunes compreendendo uma disrupção monoalélica em Tet2 com um inibidor de Tet2, por exemplo, como descrito aqui, resulta em disrupção bialélica de Tet2, por exemplo, disrupção do alelo de Tet2 de tipo selvagem.

[0083] Em algumas modalidades de um método de preparação revelado aqui, uma disrupção de Tet2 está presente na população de células efetoras imunes, por exemplo, antes do contato com um ácido nucleico codificando um polipeptídeo de CAR. Em algumas modalidades, a população de células efetoras imunes compreende um ou mais alelos de Tet2 com disrupção, por exemplo, disrupção bialélica em Tet2.

[0084] Em algumas modalidades de um método de preparação revelado aqui, uma disrupção de Tet2 não está presente na população de células efetoras imunes, por exemplo, antes do contato com um ácido nucleico codificando um polipeptídeo de CAR. Em algumas modalidades, o contato de uma população de células efetoras imunes

compreendendo alelos de Tet2 sem disrupção, por exemplo, compreendendo dois alelos de Tet2 de tipo selvagem, com um inibidor de Tet2, por exemplo, como descrito aqui, resulta em disrupção bialélica de Tet2, por exemplo, disrupção do alelo de Tet2 de tipo selvagem.

[0085] Em algumas modalidades, uma população expressando CAR preparada com a população efetora imune compreendendo disrupção bialélica de Tet2 tem uma, duas, três, quatro ou mais (por exemplo, todas) das seguintes características:

(i) potencial de expansão aumentado, por exemplo, pelo menos 1,5, 2, 3, 4, 5 ou 6 vezes a expansão medida por um ensaio do Exemplo 1;

(ii) propriedades de células T de memória de vida curta, por exemplo, expressão aumentada de EOMES, expressão decrescida de KLRG1, atividade citotóxica aumentada ou potencial aumentado de células T de memória medido por um ensaio do Exemplo 1;

(iii) função efetora aumentada, por exemplo, desgranulação aumentada de CD107a, granzima B e perforina medida por um ensaio do Exemplo 1;

(iv) atividade citolítica aumentada medida por um ensaio do Exemplo 1; ou

(v) capacidade proliferativa aumentada, por exemplo, medida por Ki67 aumentado, medido por um ensaio do Exemplo 1,

em comparação com uma célula expressando CAR de outro modo similar com Tet2 sem disrupção, por exemplo, Tet2 de tipo selvagem.

[0086] Em algumas modalidades de quaisquer dos métodos ou composições revelados aqui, uma célula expressando CAR compreendendo uma disrupção em Tet2, por exemplo, disrupção monoalélica ou bialélica em Tet2 (por exemplo, por quaisquer dos métodos revelados aqui), pode popular, por exemplo, desenvolver ou se dividir em, uma população de células expressando CAR, por exemplo,

se expandir em uma população clonal de células expressando CAR. Em algumas modalidades, uma população de células expressando CAR derivada de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma população clonal de células expressando CAR, pode ser administrada a um sujeito, por exemplo, para o tratamento de uma doença ou condição, por exemplo, um câncer, por exemplo, um câncer associado a expressão de um antígeno reconhecido pela célula expressando CAR. Em algumas modalidades, uma população clonal de células expressando CAR resulta em tratamento, por exemplo, como descrito aqui, da referida doença.

[0087] Em outro aspecto, a invenção proporciona um método de preparação de uma célula expressando CAR, compreendendo introduzir um ácido nucleico codificando um CAR em uma célula de modo que o referido ácido nucleico (ou sua porção codificando CAR) é integrado no genoma da célula dentro de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) (por exemplo, dentro de um íntron ou éxon do gene associado a Tet2), de modo que a expressão e/ou função dos genes associados a Tet2 são alteradas (por exemplo, reduzidas ou eliminadas), em que o gene associado a Tet2 é escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0088] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 é escolhido de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0089] Em outro aspecto, a invenção proporciona um método de preparação de uma célula expressando CAR, compreendendo contatar a referida célula expressando CAR *ex vivo* com um modulador (por

exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0090] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 é escolhido de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0091] Em outro aspecto, a invenção proporciona um vetor compreendendo uma sequência codificando um CAR e uma sequência codificando um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0092] Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor) é (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene, ou um seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico (por exemplo, um siRNA ou shRNA) que inibe a expressão do gene associado a Tet2; (3) uma proteína (por exemplo, uma negativa dominante, por exemplo, cataliticamente inativa) codificada pelo gene associado a Tet2, ou um parceiro de ligação de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2; e (4) um ácido nucleico codificando quaisquer de (1)-(3), ou suas combinações.

[0093] Em algumas modalidades, o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em algumas

modalidades, a sequência codificando um CAR e a sequência codificando o inibidor estão separadas por um sítio 2A.

[0094] Em outro aspecto, a invenção proporciona um sistema de edição genética que é específico para uma sequência de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) ou um seu elemento regulador, em que o gene associado a Tet2 é escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0095] Em algumas modalidades, o sistema de edição genética é específico para uma sequência de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0096] Em algumas modalidades, o sistema de edição genética é um sistema de edição genética CRISPR/Cas, um sistema de nucleases dedo de zinco, um sistema TALEN ou um sistema de meganucleases. Em algumas modalidades, o sistema de edição genética é um sistema de edição genética CRISPR/Cas.

[0097] Em algumas modalidades, o sistema de edição genética compreende: uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou um seu elemento regulador, e uma proteína Cas9; uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou um seu elemento regulador, e um ácido nucleico codificando uma proteína Cas9; um ácido nucleico codificando uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou um seu elemento

regulador, e uma proteína Cas9; ou um ácido nucleico codificando uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou um seu elemento regulador, e um ácido nucleico codificando uma proteína Cas9.

[0098] Em algumas modalidades, o sistema de edição genética também compreende um DNA-modelo. Em algumas modalidades, o DNA-modelo compreende uma sequência de ácido nucleico codificando um CAR, por exemplo, um CAR como descrito aqui.

[0099] Em outro aspecto, a invenção proporciona uma composição para a preparação *ex vivo* de uma célula expressando CAR, compreendendo um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de: (i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1; (ii) um ou mais genes listados na Tabela 8; (iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D; (iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou (v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

[0100] Em algumas modalidades, o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0101] Em algumas modalidades, o modulador (por exemplo, inibidor) é (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene associado a Tet2 ou um seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico (por exemplo, um siRNA ou shRNA) que inibe a expressão do gene associado a Tet2; (3) uma proteína (por exemplo, uma negativa dominante, por exemplo, cataliticamente inativa) codificada pelo gene, ou um parceiro de ligação de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2; ou (4) um ácido nucleico codificando quaisquer de (1)-(3), ou suas combinações.

[0102] Em algumas modalidades, a composição também compreende um inibidor de Tet2.

[0103] Em outro aspecto, a invenção proporciona uma população de células compreendendo um ou mais células reveladas aqui, em que a população de células compreende uma percentagem mais elevada (por exemplo, pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 vezes mais elevada) de células Tscm (por exemplo, células T CD45RA+CD62L+CCR7+ (opcionalmente CD27+CD95+)) do que uma população de células que não compreende uma ou mais células nas quais a expressão e/ou função de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) na referida célula foram reduzidas ou eliminadas.

[0104] Em outro aspecto, a invenção proporciona uma população de células compreendendo um ou mais células de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-89, em que pelo menos 50% (por exemplo, pelo menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% ou 99%) da população de células têm um fenótipo de células T de memória central.

[0105] Em algumas modalidades, o fenótipo de células de memória central é um fenótipo de células T de memória central. Em algumas modalidades, pelo menos 50% (por exemplo, pelo menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% ou 99%) da população de células expressam CD45RO e/ou CCR7.

DESCRIÇÃO BREVE DOS DESENHOS

[0106] O arquivo da patente ou pedido de patente contém pelo menos uma figura executada a cores. Cópias desta publicação de patente ou pedido de patente com figura(s) a cores serão proporcionadas pelo Gabinete por pedido e pagamento da taxa necessária.

[0107] As **Figuras 1A-1D** ilustram a avaliação de respostas clínicas após transferência adotiva de células T CAR em um paciente com CLL.

A **Figura 1A** mostra a expansão e persistência *in vivo* de células T CAR CTL019 antes e após duas infusões. A frequência de células CTL019 é ilustrada como cópias médias do transgene/µg de DNA. A **Figura 1B** mostra medições longitudinais de citocinas no soro antes e após infusões de células T CAR. Uma medição absoluta de cada citocina foi derivada de uma curva padrão baseada em concentrações de proteínas recombinantes ao longo de uma série de diluições de oito pontos de três vezes. Cada amostra foi analisada em duplicado com valores médios mostrados (coeficiente de variação menor do que 10%). A **Figura 1C** mostra o número total de células de CLL em circulação antes e após terapia com CTL019. Os cálculos foram baseados em contagens absolutas de linfócitos de valores de contagens em sangue completo presumindo um volume de 5 litros de sangue periférico. A **Figura 1D** mostra imagiologia por tomografia computorizada sequencial mostrando resolução de linfadenopatia refratária a quimioterapia. As massas foram progressivamente reduzidas começando dois meses após a segunda infusão de células T CAR, indicado pelas setas, e ficaram resolvidas quando se perfez um ano e para além disso (dados não mostrados).

[0108] A **Figura 2** ilustra que o crescimento de células T CAR no Paciente 10 ocorre no compartimento de CD8. A cinética da expansão de células T CAR CTL019 total (gráfico da esquerda) relativamente à expansão de células CD8+ CTL019 (gráfico da direita) é mostrada pré- e pós-infusão. O número de células CTL019 em circulação foi calculado com base nas frequências de populações CD3+ e CD8+ CAR+ e contagens absolutas de células. Todos os valores observados ficaram acima do limite de detecção por citometria de fluxo (0,1%).

[0109] A **Figura 3** ilustra que células T CAR preparadas a partir do Paciente 10 exibem uma composição policlonal. É mostrada a distribuição de TCRVβ em células T CAR CD8- (gráfico circular da

esquerda) e CD8+ (gráfico circular da direita) no produto de infusão celular do Paciente 10.

[0110] As **Figuras 4A-4D** ilustram a distribuição da utilização de TCRVβ em um paciente com CLL que teve uma expansão clonal de células T CAR. Na **Figura 4A** é ilustrada a frequência média da utilização do segmento genético TCRVβ no sangue periférico de um paciente com CLL um mês (gráfico circular da esquerda) e dois meses (gráfico circular do meio) após a segunda infusão de células T CAR. As frequências de clonótipos de TCRVβ em células T CAR CD8+ submetidas à triagem no pico da expansão após a segunda infusão são mostradas no gráfico circular mais à direita. Cada segmento genético TCRVβ é representado por uma fatia que é proporcional à sua frequência. A fatia que representa a proporção da utilização de TCRVβ5.1 em cada instante está indicada em cada gráfico circular. Na **Figura 4B**, a análise citométrica de fluxo de PBMC ilustra a grande proporção de células T CAR CD8+ que são positivas para TCRVβ5.1 relativamente a TCRVβ13.1 (controle negativo). Na **Figura 4C**, a abundância de clonótipos de TCRVβ5.1 em células T CD8+ CAR+ submetidas à triagem no pico da atividade é ilustrada em células CD8+ CTL019 pré-infusão e em sangue completo ao um bem como dois meses após o segundo tratamento com células T CAR determinado por sequenciamento profundo do repertório. O clone de TCRVβ5.1 dominante (CASSLDGSGQGSDYGYTF) é mostrado como uma mancha vermelha em cada gráfico bivariado. Na **Figura 4D**, a cinética da expansão clonal de TCRVβ5.1 após a segunda infusão de células T CAR é representada graficamente em paralelo com os níveis de proliferação e persistência de CAR. Os níveis do CAR e do clone de TCRVβ5.1 dominante (mostrados como percentagem de células com a sequência clonal detectável) foram medidos por qPCR em DNA extraído de sangue completo.

[0111] As **Figuras 5A-5B** ilustram a análise de sítios de integração lentiviral de CAR e detecção de transcritos quiméricos de *TET2* no Paciente 10. Na **Figura 5A**, a abundância relativa de clones de células T CAR após a segunda infusão é resumida na forma de um gráfico de barras empilhadas. Barras diferentes indicam os principais clones de células, marcados por sítios de integração. Uma chave para os sítios é mostrada por baixo do gráfico. Cada sítio de integração é denominado pelo gene mais próximo. A abundância relativa foi estimada usando o método SonicLength. Abundâncias relativas estimadas inferiores a 3% são classificadas como "Baixa Abundância". A **Figura 5B** ilustra um diagrama do vetor no lócus do sítio de integração de *TET2* ilustrando o encadeamento de transcritos truncados no vetor de provírus que foram detectados no pico da atividade de células T CAR *in vivo* (Dia 121). Cada um dos eventos de encadeamento recrutou códons de terminação ectópicos na estrutura (designados pelos pequenos asteriscos acima das linhas negras contínuas), que representam os produtos encadeados. Sequências correspondentes às junções de encadeamento para as três mensagens quiméricas (cinco junções no total) são listadas por baixo do diagrama. As regiões sublinhadas na tabela por baixo do diagrama correspondem a doadores e aceptores de encadeamento. LTR, repetição terminal longa; cPPT, trato de polipurina; EF1α, promotor do fator de alongamento 1 alfa.

[0112] As **Figuras 6A-6B** ilustram a estratégia para a detecção de transcritos quiméricos de *TET2* no Paciente 10. Na **Figura 6A** é ilustrada a estratégia para a detecção de RNA poliadenilado correspondente a transcritos de *TET2* truncados. As caixas representam as regiões genômicas entre os éxons 9 e 10 de *TET2* com o vetor integrado presente. Setas azuis e vermelhas indicam localizações gerais dos iniciadores diretos e reversos que são listados por baixo do diagrama. LTR, repetição terminal longa; cPPT, trato de polipurina; EF1α, promotor

do fator de alongamento 1 alfa. A **Figura 6B** mostra a visualização de produtos de RT-PCR de *TET2* quiméricos. Os produtos de PCR foram separados em um gel de agarose nativo e corados com brometo de etídio. Os tamanhos esperados dos amplicons são listados acima do gel. Os transcritos truncados são salientados por caixas. Uma chave para as reações de RT-PCR é mostrada por baixo do diagrama.

[0113] As **Figuras 7A-7G** ilustram que a deficiência de *TET2* altera a paisagem epigenética e diferenciação de células T. Na **Figura 7A** são mostrados níveis totais de 5-hmc em células T CD8+ CAR+ e CAR- cultivadas do Paciente 10 no pico da resposta à terapia com CTL019. Os histogramas ilustram a intensidade da coloração de 5-hmc intracelular determinada por citometria de fluxo. A **Figura 7B** mostra diagramas de Venn de regiões de ATAC-seq diferencial (esquerda) e enriquecimento daqueles picos em cada porção dos diagramas (direita) em células T CD8+ CAR+ e CAR- cultivadas do Paciente 10. Na **Figura 7C** são mostradas perspectivas por pesquisa do genoma do enriquecimento ATAC no lócus de *IFNG* correspondente às células do paciente acima. A **Figura 7D** ilustra frequências de células T CD8+ CAR+ bem como CAR- expressando IFNγ e CD107a expandidas do Paciente 10 que não foram estimuladas ou foram estimuladas com esférulas revestidas com anticorpo anti-CD3/CD28. As inserções nos gráficos de contorno indicam as frequências de populações de células agrupadas. Na **Figura 7E**, o fenótipo de diferenciação *ex vivo* de células T CAR no pico da atividade *in vivo* é mostrado em dois pacientes com CLL respondedores completos de longa duração (Pacientes 1 e 2) em comparação com o Paciente 10. As fatias representam a frequência relativa de cada subconjunto de células T. Células T do tipo virgems: CCR7+CD45RO-; células T de memória central: CCR7+CD45RO+; células T de memória efetoras: CCR7-CD45RO+; e células T efetoras: CCR7-CD45RO-. O nível de células CTL019 foi determinado por PCR

quantitativa e as frequências de células T CAR ativadas expressando HLA-DR (marcador de ativação da superfície celular) no pico da resposta de cada paciente estão listadas por baixo dos gráficos circulares. Na **Figura 7F** é mostrada a expressão de *TET2* em células T CD8+ primárias derivadas de doadores saudáveis que foram transduzidas de modo lentiviral com um shRNA embaralhado (controle) ou sequências de TET2 medida por PCR quantitativa. As barras de erro ilustram m.e.p. Na **Figura 7G** são ilustradas as frequências de células T CD8+ de memória central (esquerda), de memória efetoras (meio) e efetoras de doadores saudáveis após silenciamento mediado por shRNA de *TET2* e expansão *in vitro*. A frequência de cada subconjunto é apresentada relativamente ao seu correspondente que foi transduzido com o shRNA embaralhado (n = 12). Os valores P foram determinados usando um teste t de Student emparelhado de duas caudas.

[0114] A **Figura 8** ilustra que células T CAR com *TET2* com disrupção do Paciente 10 exibem um perfil global de cromatina consistente com diferenciação e atividade efetoras suprimidas. São listados termos de GO associados a regiões de cromatina que estão significativamente mais fechadas em células T CD8+ CAR+ com *TET2* com disrupção do Paciente 10 em comparação com as suas contrapartidas de células T CD8+ CAR- correspondentes.

[0115] A **Figura 9** ilustra o estado de diferenciação de células T CAR no Paciente 10 ao longo do tempo. Gráficos de contorno representativos de dados citométricos de fluxo ilustrando a frequência de células T CD8+ CAR+ e CAR- no Paciente 10 que expressam HLA-DR (molécula de superfície indicadora de ativação de células T). São mostradas as proporções destas células que expressam CD45RO e CCR7 como determinantes do estado de diferenciação. As inserções nos gráficos de contorno indicam as frequências das populações de células agrupadas.

[0116] As **Figuras 10A-10C** ilustram que o silenciamento de *TET2* aumenta a frequência de células T CAR+ e reduz a diferenciação efetora. A **Figura 10A** mostra gráficos representativos de citometria de fluxo mostrando o estado de diferenciação de células T CD8+ CAR+ de doadores saudáveis após transdução com um shRNA embaralhado (controle) ou um shRNA visando *TET2*. As inserções definem frequências de populações agrupadas. As **Figura 10B** e **Figura 10C** mostram frequências de células T CD8+ CAR+ e células T CD4+ CAR+ de sujeitos saudáveis, respectivamente, de acordo com o fenótipo de diferenciação após transdução com shRNA de controle ou *TET2* (n = 10). Os valores P foram calculados usando um teste t de Student emparelhado de duas caudas.

[0117] As **Figuras 11A-11E** ilustram resultados da pesquisa de sítios lentivirais de integração de CAR e deficiência de TET2 no Paciente 10. A **Figura 11A** mostra a abundância relativa de clones de células T CAR após a segunda infusão resumida na forma de um gráfico de barras empilhadas. Barras horizontais diferentes indicam os principais clones de células, marcados por sítios de integração. Uma chave para os sítios é mostrada por baixo do gráfico. Abundâncias relativas estimadas inferiores a 3% são classificadas como "Baixa Abundância". A **Figura 11B** mostra a diversidade de células T CAR no Paciente 10 ao longo do tempo usando o índice de Shannon, que descreve o número de sítios de integração únicos diferentes e a uniformidade da distribuição de células submetidas a amostragem entre sítios de integração. A **Figura 11C** mostra um diagrama do vetor no lócus do sítio de integração de *TET2* ilustrando o encadeamento de transcritos truncados no vetor de provírus que foram detectados no pico da atividade de células T CAR *in vivo* (Dia 121). Cada um dos eventos de encadeamento recrutou códons de terminação ectópicos na estrutura (designados pelos pequenos asteriscos acima das linhas

negras contínuas), que representam os produtos encadeados. Sequências correspondentes às junções de encadeamento para as três mensagens quiméricas (cinco junções no total) são listadas por baixo do diagrama. As regiões sublinhadas na tabela por baixo do diagrama correspondem a doadores e aceptores de encadeamento. LTR, repetição terminal longa; cPPT, trato de polipurina; EF1α, promotor do fator de alongamento 1 alfa. A **Figura 11D** mostra um diagrama das oxidações sequenciais catalisadas por TET2 de 5-mC em 5-hmC e em 5-fC e 5-caC (topo). São mostradas colorações "dot" de 5-mC, 5-hmC, 5-fC e 5-caC em 600 ng de DNA genômico isolado de células T HEK293 transfectadas com o mutante de TET2 E1879Q. Os controles do ensaio incluem um vetor vazio, TET2 de tipo selvagem e mutante de TET2 cataliticamente inativo (HxD) (em baixo à esquerda). Também é mostrada uma transferência Western usando anticorpo anti-FLAG para detectar hTET2 nas células acima. Hsp90α/β foi usado como controle de carga (em baixo à direita). A **Figura 11E** mostra níveis genômicos de modificações 5-mC, 5-hmC, 5-fC e 5-caC produzidas pelo mutante de TET2 E1879Q e quantificadas por LC–MS/MS como a percentagem de modificações totais de citosina. São mostradas percentagens derivadas da média de experiências independentes (n = 3) (**P □ 0,01 determinado usando um teste *t* de Student emparelhado de duas caudas).

[0118] As **Figuras 12A-12C** ilustram o efeito da deficiência de TET2 na paisagem epigenética de células T CAR. A **Figura 12A** mostra um enriquecimento de motivos de ligação de fator de transcrição (TF) em regiões de cromatina ganhas ou perdidas em células T CAR+ em comparação com CAR- do Paciente 10**.** A **Figura 12B** mostra os fenótipos de diferenciação longitudinal de células T CD8+ CAR+ e CAR- do Paciente 10 (painel da esquerda). O fenótipo de diferenciação no pico da atividade *in vivo* é mostrado em dois pacientes com CLL

respondedores completos de longa duração (Pacientes 1 e 2) em comparação com o Paciente 10 (painel da direita). As fatias representam a frequência relativa de cada subconjunto de células T. O nível de células CTL019, conforme determinado por PCR quantitativa, e as frequências de células T CAR ativadas expressando HLA-DR (marcador de ativação da superfície celular) no pico da resposta de cada paciente estão listadas por baixo dos gráficos circulares. A **Figura 12C** mostra a proliferação de células CTL019 de longa duração em resposta à estimulação repetitiva com células K562 expressando CD19 ou mesotelina (controle negativo). Células T CAR foram transduzidas para expressarem um shRNA de controle embaralhado ou específico de TET2. Cada seta indica quando as células foram expostas ao antígeno. Os valores P foram determinados usando um teste *t* de Student emparelhado de duas caudas (*P < 0,05).

[0119] A **Figura 13** ilustra o crescimento de células T CAR no Paciente 10 no compartimento de CD8. As cinéticas pré- e pós-infusão da expansão de células T CAR (CD3+, CD8+ e CD8-) são mostradas no Paciente 10 em comparação com outros respondedores. O número de células CTL019 em circulação foi calculado com base nas frequências de populações de células T CAR CD3+, CD8+ e CD8- e contagens absolutas de células. Todos os valores observados ficaram acima do limite de detecção por citometria de fluxo (0,1%).

[0120] As **Figuras 14A-14D** ilustram o estabelecimento do perfil de populações de células imunes e detecção de células T CAR no Paciente 10 em um instante pós-infusão de longa duração. A **Figura 14A** mostra a estratégia de agrupamento por citometria de fluxo para identificar células T CAR do sangue periférico no Paciente 10. A **Figura 14B** mostra percentagens relativas de células CTL019 nos compartimentos de CD4 e CD8 deste paciente. Células T de um sujeito saudável serviram de controle negativo. A **Figura 14C** mostra frequências de

células B em circulação no Paciente 10 em comparação com um sujeito saudável. Foi efetuado pré-agrupamento para excluir células mortas bem como dupletos, e todos os limites do agrupamento foram baseados em controles de fluorescência menos um (FMO). A **Figura 14D** mostra a enumeração de várias populações de células imunes no sangue do Paciente 10. A frequência de cada população é listada em uma coluna separada que corresponde ao seu marcador fenotípico. A **Figura 14E** mostra a persistência de células T CAR no sangue periférico do Paciente 10 determinada por qPCR. É listado o valor do ciclo limite (Ct) médio obtido de três repetições e o desvio padrão (DP). Os cálculos da abundância de células T CAR são relatados como marca média por célula bem como cópias de transgene por micrograma de DNA genômico.

[0121] A **Figura 15** ilustra o estabelecimento do perfil global de cromatina de células T CAR deficientes em TET2 do Paciente 10. São listados termos de ontologia genética (GO) associados a regiões de cromatina que estão significativamente mais abertas em células T CD8+ CAR+ com *TET2* com disrupção do Paciente 10 em comparação com as suas contrapartidas de células T CD8+ CAR- correspondentes.

[0122] A **Figura 16** ilustra o estado de diferenciação de células T CAR no Paciente 10 em comparação com outros respondedores ao longo do tempo. Estratégia de agrupamento exemplificativa usada para determinar o fenótipo de diferenciação de células T CD8+ CAR+ e CAR- de um respondedor completo (painel de cima à esquerda). Gráficos de linhas ilustram o estado de diferenciação destas populações de células em outros pacientes respondedores ao longo do tempo e são representados graficamente com níveis de células T CAR correspondentes no sangue, determinado por qPCR.

[0123] A **Figura 17** ilustra a viabilidade de células T CAR após silenciamento de TET2 e re-estimulação em série com alvos tumorais.

Viabilidade de células T CAR+ transduzidas com um shRNA de TET2 ou controle embaralhado e re-estimuladas com células K562 expressando CD19 (n = 12). Cada seta indica o instante em que as células foram expostas ao antígeno.

[0124] As **Figuras 18A-18B** ilustram perfis de citocinas de células T CAR após inibição de TET2. A **Figura 18A** mostra citometria de fluxo representativa da produção aguda de citocinas intracelulares por células T CAR de doadores saudáveis transduzidas com um shRNA de TET2 ou controle embaralhado (painel da esquerda). É mostrada a produção de IFNγ, TNFα e IL-2 por células T CAR CD3+, CD4+ e CD8+ totais. Estas células foram estimuladas com esférulas revestidas com CD3/CD28 (painel de topo da direita) ou anticorpo anti-idiotípico para CAR (painel de baixo da direita). A **Figura 18B** mostra a produção de IFNγ (painel de cima), TNFα (painel do meio) e IL-2 (painel de baixo) por células T CAR deficientes em TET2 ou de controle após re-estimulação com antígeno CD19. Cada seta indica quando células T CAR foram expostas a CD19.

[0125] As **Figuras 19A-19C** ilustram o efeito do silenciamento de TET2 na maquinaria citotóxica de células T CAR. A **Figura 19A** ilustra gráficos de citometria de fluxo mostrando a frequência de células T CAR com nocaute de TET2 ou de controle expressando CD107a (um marcador de citólise) após estimulação com CD3/CD28 e específica para CAR (painel da esquerda). São mostrados dados resumidos da análise de células T CAR preparadas a partir de n = 6 doadores saudáveis diferentes (painel da direita). A **Figura 19B** mostra histogramas representativos ilustrando níveis de expressão de granzima B e perforina em células T CAR no cenário de inibição de TET2 em comparação com o seu controle correspondente (painel da esquerda). Dados reunidos células T CAR de n = 5 doadores saudáveis estão resumidos nos painéis da direita. A **Figura 19C** mostra a

capacidade citotóxica de células CTL019 (transduzidas com um shRNA de TET2 ou controle embaralhado) após cocultura durante a noite com células OSU-CLL (painel da esquerda) ou NALM-6 (painel da direita) expressando luciferase. Células T não transduzidas foram incluídas como um grupo adicional para controlar a lise inespecífica. Os valores P foram determinados usando um teste *t* de Student emparelhado de duas caudas (*P < 0,05; **P ≤ 0,01).

[0126] As **Figuras 20A-20B** ilustram a expressão de moléculas efetoras e de memória por células T CAR do Paciente 10 em comparação com outros sujeitos respondedores. A **Figura 20A** mostra expressão de granzima B (painel da esquerda) e a frequência de células T CAR- e CAR+ coexpressando granzima B/Ki-67 (painel da direita) no pico da expansão de CTL019 *in vivo* no Paciente 10 em comparação com 3 outros respondedores completos. A **Figura 20B** mostra histogramas representativos da expressão de EOMES intracelular (painel da esquerda) e gráficos de contorno ilustrando frequências de linfócitos expressando CD27 (painéis do meio) e KLRG1 (painéis da direita) nas mesmas populações de células destes pacientes.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Definições

[0127] A menos que definidos de outro modo, todos os termos técnicos e científicos usados aqui têm o mesmo significado que é habitualmente entendido pelo perito na técnica à qual pertence a invenção.

[0128] O termo "uma" e "um" refere-se a um ou mais de um (isto é, a pelo menos um) do objeto gramatical do artigo. Por exemplo, "um elemento" significa um elemento ou mais de um elemento.

[0129] O termo "cerca de", quando se refere a um valor mensurável, como uma quantidade, uma duração temporal, e semelhantes, pretende abranger variações de ±20% ou, em alguns casos, ±10%, ou em alguns

casos ±5%, ou em alguns casos ±1%, ou em alguns casos ±0,1% do valor especificado, uma vez que tais variações são apropriadas para realizar os métodos revelados.

[0130] O termo "Receptor de Antígenos Quimérico" ou alternativamente um "CAR" se relaciona com um conjunto de polipeptídeos, tipicamente dois nas modalidades mais simples, que, quando em uma célula efetora imune, dotam a célula de especificidade para uma célula-alvo, tipicamente uma célula cancerígena, e com geração de sinal intracelular. Em algumas modalidades, um CAR compreende pelo menos um domínio de ligação a antígenos extracelular, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização citoplasmático (também referido aqui como "um domínio de sinalização intracelular") compreendendo um domínio de sinalização funcional derivado de uma molécula estimuladora e/ou molécula coestimuladora como definido abaixo. Em alguns aspectos, no conjunto de polipeptídeos, estes são contíguos entre si. Em algumas modalidades, o conjunto de polipeptídeos inclui um interruptor de dimerização que, na presença de uma molécula de dimerização, pode acoplar os polipeptídeos entre si, por exemplo, pode acoplar um domínio de ligação a antígenos a um domínio de sinalização intracelular. Em um aspecto, a molécula estimuladora é a cadeia zeta associada ao complexo do receptor de células T. Em um aspecto, o domínio de sinalização citoplasmático compreende adicionalmente um ou mais domínios de sinalização funcional derivados de pelo menos uma molécula coestimuladora como definida abaixo. Em um aspecto, a molécula coestimuladora é escolhida das moléculas coestimuladoras descritas aqui, por exemplo, 4-1BB (isto é, CD137), CD27 e/ou CD28. Em um aspecto, o CAR compreende uma proteína de fusão quimérica compreendendo um domínio de ligação a antígenos extracelular, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular compreendendo um domínio de sinalização funcional

derivado de uma molécula estimuladora. Em um aspecto, o CAR compreende uma proteína de fusão quimérica compreendendo um domínio de ligação a antígenos extracelular, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular compreendendo um domínio de sinalização funcional derivado de uma molécula coestimuladora e um domínio de sinalização funcional derivado de uma molécula estimuladora. Em um aspecto, o CAR compreende uma proteína de fusão quimérica compreendendo um domínio de ligação a antígenos extracelular, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular compreendendo dois domínios de sinalização funcional derivados de uma ou mais molécula(s) coestimuladora(s) e um domínio de sinalização funcional derivado de uma molécula estimuladora. Em um aspecto, o CAR compreende uma proteína de fusão quimérica compreendendo um domínio de ligação a antígenos extracelular, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular compreendendo pelo menos dois domínios de sinalização funcional derivados de uma ou mais molécula(s) coestimuladora(s) e um domínio de sinalização funcional derivado de uma molécula estimuladora. Em um aspecto, o CAR compreende uma sequência líder opcional no terminal amino (N-ter) da proteína de fusão com CAR. Em um aspecto, o CAR compreende adicionalmente uma sequência líder no terminal N do domínio de ligação a antígenos extracelular, em que a sequência líder é opcionalmente clivada do domínio de ligação a antígenos (por exemplo, um scFv) durante o processamento celular e localização do CAR na membrana celular.

[0131] Um CAR que compreende um domínio de ligação a antígenos (por exemplo, um scFv ou TCR) que visa um marcador tumoral específico X, como os descritos aqui, também é referido como CAR X. Por exemplo, um CAR que compreende um domínio de ligação a antígenos que visa CD19 é referido como CAR CD19.

[0132] O termo "domínio de sinalização" se relaciona com a porção funcional de uma proteína que atua por transmissão de informação dentro da célula para regular a atividade celular através de vias de sinalização definidas por geração de segundos mensageiros ou funcionamento como efetores por resposta a tais mensageiros.

[0133] O termo "anticorpo", como usado aqui, se relaciona com uma proteína ou sequência polipeptídica derivada de uma molécula de imunoglobulina que se liga especificamente a um antígeno. Os anticorpos podem ser policlonais ou monoclonais, de cadeia múltipla ou simples, ou imunoglobulinas intatas, e podem ser derivados de fontes naturais ou de fontes recombinantes. Os anticorpos podem ser tetrâmeros de moléculas de imunoglobulinas.

[0134] O termo "fragmento de anticorpo" se relaciona com pelo menos uma porção de um anticorpo, que retém a capacidade de interagir especificamente com (por exemplo, por ligação, impedimento estérico, estabilização/desestabilização, distribuição espacial) um epítopo de um antígeno. Exemplos de fragmentos de anticorpos incluem, mas não se limitam a, fragmentos Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, fragmentos de anticorpos scFv, Fvs ligados por dissulfeto (sdFv), um fragmento Fd consistindo nos domínios VH e CH1, anticorpos lineares, anticorpos de domínio único tais como sdAb (VL ou VH), domínios VHH de camelídeo, anticorpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticorpos tais como um fragmento bivalente compreendendo dois fragmentos Fab ligados por uma ponte dissulfeto na região de dobradiça, e uma CDR isolada ou outros fragmentos de ligação a epítopos de um anticorpo. Um fragmento de ligação a antígenos também pode ser incorporado em anticorpos de domínio único, maxicorpos, minicorpos, nanocorpos, intracorpos, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, v-NAR e bis-scFv (ver, por exemplo, Hollinger e Hudson, *Nature Biotechnology* 23:1126-1136, 2005). Fragmentos de

ligação a antígenos podem também ser enxertados em moldes baseados em polipeptídeos como uma fibronectina tipo III (Fn3) (ver Patente U.S. Nº: 6,703,199, que descreve minicorpos de polipeptídeo de fibronectina).

[0135] O termo "scFv" se relaciona com uma proteína de fusão compreendendo pelo menos um fragmento de anticorpo compreendendo uma região variável de uma cadeia leve e pelo menos um fragmento de anticorpo compreendendo uma região variável de uma cadeia pesada, em que as regiões variáveis da cadeia leve e pesada estão ligadas de modo contíguo, por exemplo, via um ligante sintético, por exemplo, um ligante polipeptídico curto flexível, e podem ser expressas como um polipeptídeo de cadeia única, e em que o scFv retém a especificidade do anticorpo intato de onde é derivado. A menos que seja especificado, como usado aqui, um scFv pode ter as regiões variáveis VL e VH em qualquer ordem, por exemplo, relativamente às extremidades N-terminal e C-terminal do polipeptídeo, o scFv pode compreender VL-ligante-VH ou pode compreender VH-ligante-VL.

[0136] A porção do CAR da invenção compreendendo um anticorpo ou seu fragmento de anticorpo pode existir numa variedade de formas nas quais o domínio de ligação a antígenos é expresso como parte de uma cadeia polipeptídica contígua incluindo, por exemplo, um fragmento de anticorpo de domínio único (sdAb), um anticorpo de cadeia simples (scFv), um anticorpo humanizado ou anticorpo biespecífico (Harlow *et al.*, 1999, Em: "Using Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, NI; Harlow *et al.*, 1989, Em: "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor, Nova Iorque; Houston *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; Bird *et al.*, 1988, *Science* 242:423-426). Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos de uma composição de CAR da invenção compreende um fragmento de anticorpo. Em um aspecto adicional, o

CAR compreende um fragmento de anticorpo que compreende um scFv. As fronteiras precisas de sequências de aminoácidos de uma dada CDR podem ser determinadas usando qualquer um de alguns esquemas bem conhecidos, incluindo os descritos por Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (esquema de numeração de "Kabat"), Al-Lazikani *et al.*, (1997) *JMB* 273, 927-948 (esquema de numeração de "Chothia") ou uma sua combinação.

[0137] Como usado aqui, o termo "domínio de ligação" ou "molécula de anticorpo" se relaciona com uma proteína, por exemplo, uma cadeia de imunoglobulina ou seu fragmento, compreendendo pelo menos uma sequência de domínio variável de imunoglobulina. O termo "domínio de ligação" ou "molécula de anticorpo" abrange anticorpos e fragmentos de anticorpos. Em uma modalidade, uma molécula de anticorpo é uma molécula de anticorpo multiespecífica, por exemplo, compreende uma pluralidade de sequências de domínio variável de imunoglobulina, em que uma primeira sequência de domínio variável de imunoglobulina da pluralidade tem especificidade de ligação para um primeiro epítopo e uma segunda sequência de domínio variável de imunoglobulina da pluralidade tem especificidade de ligação para um segundo epítopo. Em uma modalidade, uma molécula de anticorpo multiespecífica é uma molécula de anticorpo biespecífica. Um anticorpo biespecífico tem especificidade para não mais do que dois antígenos. Uma molécula de anticorpo biespecífica é caracterizada por uma primeira sequência de domínio variável de imunoglobulina que tem especificidade de ligação para um primeiro epítopo e uma segunda sequência de domínio variável de imunoglobulina que tem especificidade de ligação para um segundo epítopo.

[0138] A porção do CAR da invenção compreendendo um anticorpo ou seu fragmento de anticorpo pode existir em uma variedade de formas

nas quais o domínio de ligação a antígenos é expresso como parte de uma cadeia polipeptídica contígua incluindo, por exemplo, um fragmento de anticorpo de domínio único (sdAb), um anticorpo de cadeia simples (scFv), um anticorpo humanizado ou anticorpo biespecífico (Harlow *et al.*, 1999, Em: "Using Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, NI; Harlow *et al.*, 1989, Em: "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor, Nova Iorque; Houston *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; Bird *et al.*, 1988, *Science* 242:423-426). Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos de uma composição de CAR da invenção compreende um fragmento de anticorpo. Em um aspecto adicional, o CAR compreende um fragmento de anticorpo que compreende um scFv.

[0139] O termo "cadeia pesada de anticorpo" se relaciona com o maior dos dois tipos de cadeias polipeptídicas presentes em moléculas de anticorpos em suas conformações de ocorrência natural, e que normalmente determina a classe à qual o anticorpo pertence.

[0140] O termo "cadeia leve de anticorpo" se relaciona com o menor dos dois tipos de cadeias polipeptídicas presentes em moléculas de anticorpos em suas conformações de ocorrência natural. Cadeias leves capa (κ) e lambda (λ) se relacionam com os dois principais isótipos de cadeias leves de anticorpos.

[0141] O termo "anticorpo recombinante" se relaciona com um anticorpo que é gerado usando tecnologia de DNA recombinante, tal como, por exemplo, um anticorpo expresso por um sistema de expressão de bacteriófago ou levedura. Também deve ser considerado que o termo significa um anticorpo que foi gerado pela síntese de uma molécula de DNA codificando o anticorpo e cuja molécula de DNA expressa uma proteína de anticorpo ou uma sequência de aminoácidos especificando o anticorpo, em que o DNA ou sequência de aminoácidos

foi obtido usando tecnologia de DNA recombinante ou sequência de aminoácidos que está disponível e é bem conhecida na técnica.

[0142] O termo "antígeno" ou "Ag" se relaciona com uma molécula que provoca uma resposta imune. Esta resposta imune pode envolver a produção de anticorpos ou a ativação de células imunologicamente competentes específicas ou ambas. O perito na técnica compreenderá que qualquer macromolécula, incluindo virtualmente todas as proteínas ou peptídeos, pode servir como um antígeno. Além disso, os antígenos podem ser derivados de DNA recombinante ou genômico. O perito na técnica compreenderá que qualquer DNA, que compreende sequências de nucleotídeos ou uma sequência de nucleotídeos parcial codificando uma proteína que desencadeia uma resposta imune codifica, por conseguinte, um "antígeno" tal como o termo é aqui usado. Além disso, o perito na técnica compreenderá que um antígeno não necessita de ser codificado apenas por uma sequência de nucleotídeos completa de um gene. É evidente que a presente invenção inclui, mas não está limitada à, utilização de sequências de nucleotídeos parciais de mais de um gene e que estas sequências de nucleotídeos estão dispostas em várias combinações para codificar polipeptídeos que desencadeiam a resposta imune desejada. Além disso, um perito na técnica compreenderá que um antígeno não precisa ser codificado por um "gene" de modo algum. É prontamente aparente que um antígeno pode ser gerado, sintetizado ou pode ser derivado de uma amostra biológica, ou pode ser uma macromolécula diferente de um polipeptídeo. Uma tal amostra biológica pode incluir, mas não está limitada a, uma amostra de tecido, uma amostra tumoral, uma célula ou um fluido com outros componentes biológicos.

[0143] O termo "efeito anticancerígeno" se relaciona com um efeito biológico que pode se manifestar por vários meios, incluindo, mas não se limitando a, por exemplo, um decréscimo do volume tumoral, um

decréscimo do número de células cancerígenas, um decréscimo do número de metástases, um aumento da esperança de vida, decréscimo da proliferação de células cancerígenas, decréscimo da sobrevivência de células cancerígenas ou melhoria de vários sintomas fisiológicos associados à condição cancerosa. Um "efeito anticancerígeno" também pode se manifestar pela capacidade dos peptídeos, polinucleotídeos, células e anticorpos para prevenir a ocorrência de câncer logo de início. O termo "efeito antitumoral" refere-se a um efeito biológico que pode ser manifestado de várias formas, incluindo, mas não se limitando a, por exemplo, uma redução no volume tumoral, uma redução do número de células tumorais, uma redução da proliferação de células tumorais ou uma redução da sobrevivência de células tumorais.

[0144] O termo "autólogo" refere-se a qualquer material derivado do mesmo sujeito no qual será posteriormente reintroduzido no sujeito.

[0145] O termo "alogeneico" refere-se a qualquer material derivado de um animal diferente da mesma espécie que o sujeito no qual o material é introduzido. Dois ou mais sujeitos são considerados alogeneicos um ao outro quando os genes em um ou mais locais não são idênticos. Em alguns aspectos, material alogeneico de sujeitos da mesma espécie pode ser geneticamente bastante diferente para interagir antigenicamente.

[0146] O termo "xenogeneico" refere-se a um enxerto derivado de um animal de uma espécie diferente.

[0147] O termo "câncer" se refere a uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células aberrantes. As células cancerígenas podem se disseminar localmente ou através da corrente sanguínea e sistema linfático para outras partes do corpo. Exemplos de vários cânceres são descritos aqui e incluem, mas não se limitam a, câncer da mama, câncer da próstata, câncer dos ovários, câncer do colo do útero, câncer da pele, câncer pancreático, câncer colorretal, câncer

renal, câncer do fígado, câncer do cérebro, linfoma, leucemia, câncer do pulmão e similares. Os termos "tumor" e "câncer" são usados indistintamente aqui, por exemplo, ambos os termos abrangem tumores sólidos e líquidos, por exemplo, difusos ou circulantes. Como usado aqui, o termo "câncer" ou "tumor" inclui cânceres e tumores pré-malignos, bem como malignos.

[0148] "Derivado de" como o termo é usado aqui, indica uma relação entre uma primeira e uma segunda molécula. Geralmente refere-se à semelhança estrutural entre a primeira molécula e uma segunda molécula e não é conotado nem inclui uma limitação de processo ou fonte numa primeira molécula que é derivada de uma segunda molécula. Por exemplo, no caso de um domínio de sinalização intracelular que é derivado de uma molécula CD3zeta, o domínio de sinalização intracelular retém estrutura suficiente de CD3zeta de modo que tem a função requerida, nomeadamente a capacidade para gerar um sinal nas condições apropriadas. Não é conotado nem inclui uma limitação a um processo particular de produção do domínio de sinalização intracelular, por exemplo, não significa que, para proporcionar o domínio de sinalização intracelular, se deva começar com uma sequência CD3zeta e deletar sequência indesejada, ou impor mutações, para chegar ao domínio de sinalização intracelular.

[0149] A frase "doença associada a expressão de um antígeno tumoral como descrito aqui" inclui mas não se limita a uma doença associada a expressão de um antígeno tumoral como descrito aqui ou condição associada a células que expressam um antígeno tumoral como descrito aqui, incluindo, por exemplo, doenças proliferativas como um câncer ou malignidade ou uma condição pré-cancerosa tal como uma mielodisplasia, uma síndrome mielodisplásica ou uma pré-leucemia; ou uma indicação não relacionada com câncer associada a células que expressam um antígeno tumoral como descrito aqui. Em um

aspecto, um câncer associado a expressão de um antígeno tumoral como descrito aqui é um câncer hematológico. Em um aspecto, um câncer associado a expressão de um antígeno tumoral como descrito aqui é um câncer sólido. Outras doenças associadas a expressão de um antígeno tumoral descrito aqui incluem, mas não se limitam a, por exemplo, cânceres atípicos e/ou não clássicos, malignidades, afecções pré-cancerosas ou doenças proliferativas associadas a expressão de um antígeno tumoral como descrito aqui. Indicações não relacionadas com câncer associadas à expressão de um antígeno tumoral como descrito aqui incluem, mas não se limitam a, por exemplo, doença autoimune (por exemplo, lúpus), distúrbios inflamatórios (alergia e asma) e transplantação. Em algumas modalidades, as células expressando um antígeno tumoral expressam, ou em qualquer momento expressaram, mRNA codificando o antígeno tumoral. Em uma modalidade, as células expressando um antígeno tumoral produzem a proteína do antígeno tumoral (por exemplo, de tipo selvagem ou mutante), e a proteína do antígeno tumoral pode estar presente em níveis normais ou níveis reduzidos. Em uma modalidade, as células expressando um antígeno tumoral produziram níveis detectáveis de uma proteína do antígeno tumoral em um momento, e subsequentemente produziram substancialmente nenhuma proteína do antígeno tumoral detectável.

[0150] O termo "modificações conservativas de sequências" se relaciona com modificações de aminoácidos que não afetam nem alteram significativamente as características de ligação do anticorpo ou fragmento de anticorpo contendo a sequência de aminoácidos. Tais modificações conservativas incluem substituições, adições e deleções de aminoácidos. Modificações podem ser introduzidas em um anticorpo ou fragmento de anticorpo da invenção por técnicas comuns conhecidas na técnica, tais como mutagênese dirigida a sítios e mutagênese

mediada por PCR. Substituições conservativas de aminoácidos são tais que um resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido com uma cadeia lateral similar. Famílias de resíduos de aminoácidos com cadeias laterais similares foram definidas na técnica. Estas famílias incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais acídicas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares sem carga (por exemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptofano), cadeias laterais não polares (por exemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadeias laterais beta-ramificadas (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina). Assim, um ou mais resíduos de aminoácidos em um CAR da invenção podem ser substituídos por outros resíduos de aminoácidos da mesma família de cadeias laterais e o CAR alterado pode ser testado usando os ensaios funcionais descritos aqui.

[0151] O termo "estimulação" se refere a uma resposta primária induzida por ligação de uma molécula estimuladora (por exemplo, um complexo TCR/CD3 ou CAR) ao seu ligante cognato (ou antígeno tumoral no caso de um CAR), mediando desse modo um evento de transdução do sinal, tal como, mas não se limitando a, transdução do sinal via o complexo TCR/CD3 ou transdução do sinal via o receptor de NK apropriado ou domínios de sinalização do CAR. A estimulação pode mediar expressão alterada de certas moléculas.

[0152] O termo "molécula estimuladora" se relaciona com uma molécula expressa por uma célula imune (por exemplo, célula T, célula NK ou célula B) que proporciona a(s) sequência(s) de sinalização citoplasmática(s) que regula(m) a ativação da célula imune em uma via estimuladora para pelo menos algum aspecto da via de sinalização de

células imunes. Em um aspecto, o sinal é um sinal primário que é iniciado, por exemplo, por ligação de um complexo TCR/CD3 a uma molécula MHC carregada com peptídeo, e que conduz a mediação de uma resposta de células T, incluindo, mas não se limitando a, proliferação, ativação, diferenciação e similares. Uma sequência de sinalização citoplasmática primária (também referida como "domínio de sinalização primário") que atua de um modo estimulador pode conter um motivo de sinalização que é conhecido como motivo de ativação baseado em tirosina do imunorreceptor ou ITAM. Exemplos de uma sequência de sinalização citoplasmática contendo ITAM que tem uso particular na invenção incluem, mas não se limitam a, os derivados de CD3 zeta, FcR gama comum (FCER1G), Fc gama RIIa, FcR beta (Fc Épsilon R1b), CD3 gama, CD3 delta, CD3 épsilon, CD79a, CD79b, DAP10 e DAP12. Em um CAR específico da invenção, o domínio de sinalização intracelular em qualquer um ou mais CARS da invenção compreende uma sequência de sinalização intracelular, por exemplo, uma sequência de sinalização primária de CD3-zeta. Em um CAR específico da invenção, a sequência de sinalização primária de CD3-zeta é a sequência proporcionada como SEQ ID Nº:18 ou os resíduos equivalentes de uma espécie não humana, por exemplo, camundongo, roedor, macaco, símio e similares. Em um CAR específico da invenção, a sequência de sinalização primária de CD3-zeta é a sequência proporcionada na SEQ ID Nº: 20, ou os resíduos equivalentes de uma espécie não humana, por exemplo, camundongo, roedor, macaco, símio e similares.

[0153] O termo "célula apresentadora de antígenos" ou "APC" se refere a uma célula do sistema imune tal como uma célula acessória (por exemplo, uma célula B, uma célula dendrítica e similares) que exibe um antígeno estranho complexado com complexos de histocompatibilidade principal (MHCs) na sua superfície. Células T

podem reconhecer estes complexos usando seus receptores de células T (TCRs). APCs processam antígenos e apresentam estes a células T.

[0154] Um "domínio de sinalização intracelular", tal como o termo é usado aqui, se refere a uma porção intracelular de uma molécula. O domínio de sinalização intracelular gera um sinal que promove uma função efetora imune da célula contendo o CAR, por exemplo, uma célula CART. Exemplos da função efetora imune, por exemplo, em uma célula CART, incluem atividade citolítica e atividade auxiliadora, incluindo a secreção de citocinas.

[0155] Em uma modalidade, o domínio de sinalização intracelular pode compreender um domínio de sinalização intracelular primário. Domínios de sinalização intracelulares primários exemplificativos incluem os derivados das moléculas responsáveis pela estimulação primária ou estimulação dependente de antígenos. Em uma modalidade, o domínio de sinalização intracelular pode compreender um domínio intracelular coestimulador. Domínios de sinalização intracelulares coestimuladores exemplificativos incluem os derivados de moléculas responsáveis por sinais coestimuladores ou estimulação independente de antígenos. Por exemplo, no caso de um CART, um domínio de sinalização intracelular primário pode compreender uma sequência citoplasmática de um receptor de células T, e um domínio de sinalização intracelular coestimulador pode compreender sequência citoplasmática de molécula correceptora ou coestimuladora.

[0156] Um domínio de sinalização intracelular primário pode compreender um motivo de sinalização que é conhecido como motivo de ativação baseado em tirosina do imunorreceptor ou ITAM. Exemplos de sequências de sinalização citoplasmáticas primárias contendo ITAMs incluem, mas não se limitam às, derivadas de CD3 zeta, FcR gama comum (FCER1G), Fc gama RIIa, FcR beta (Fc Épsilon R1b), CD3 gama, CD3 delta, CD3 épsilon, CD79a, CD79b, DAP10 e DAP12.

[0157] O termo "zeta" ou alternativamente "cadeia zeta", "CD3-zeta" ou "TCR-zeta" é definido como a proteína proporcionada como GenBan Acesso Nº BAG36664.1, ou os resíduos equivalentes de uma espécie não humana, por exemplo, camundongo, roedor, macaco, símio e similares, e um "domínio estimulador de zeta" ou alternativamente um "domínio estimulador de CD3-zeta" ou um "domínio estimulador de TCR-zeta" é definido como os resíduos de aminoácidos do domínio citoplasmático da cadeia zeta, ou seus derivados funcionais, que são suficientes para transmitir funcionalmente um sinal inicial necessário para a ativação de células T. Em um aspecto, o domínio citoplasmático de zeta compreende os resíduos 52 até 164 de GenBank Acesso Nº BAG36664.1 ou os resíduos equivalentes de uma espécie não humana, por exemplo, camundongo, roedor, macaco, símio e similares, que são seus ortólogos funcionais. Em um aspecto, o "domínio estimulador de zeta" ou um "domínio estimulador de CD3-zeta" é a sequência proporcionada como SEQ ID Nº: 18. Em um aspecto, o "domínio estimulador de zeta" ou um "domínio estimulador de CD3-zeta" é a sequência proporcionada como SEQ ID Nº: 20.

[0158] O termo "molécula coestimuladora" se relaciona com um parceiro de ligação cognato em uma célula T que se liga especificamente a um ligante coestimulador, desse modo mediando uma resposta coestimuladora pela célula T, tal como, mas não se limitando a, proliferação. Moléculas coestimuladoras são moléculas da superfície celular diferentes de receptores de antígenos ou seus ligantes que contribuem para uma resposta imune eficiente. Moléculas coestimuladoras incluem, mas não se limitam a, uma molécula MHC de classe I, BTLA e um receptor de ligante Toll, bem como OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) e 4-1BB (CD137). Outros exemplos de tais moléculas coestimuladoras incluem CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80

(KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL2R beta, IL2R gama, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11l, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a e um ligante que se liga especificamente a CD83.

[0159] Um domínio de sinalização intracelular coestimulador pode ser a porção intracelular de uma molécula coestimuladora. Uma molécula coestimuladora pode ser representada nas seguintes famílias de proteínas: proteínas receptoras do TNF, proteínas do tipo Imunoglobulina, receptores de citocinas, integrinas, moléculas de sinalização da ativação linfocítica (proteínas SLAM) e receptores ativadores de células NK. Exemplos de tais moléculas incluem CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, ICAM-1, antígeno associado à função de linfócitos-1 (LFA-1), CD2, CDS, CD7, CD287, LIGHT, NKG2C, NKG2D, SLAMF7, NKp80, NKp30, NKp44, NKp46, CD160, B7-H3, e um ligante que se liga especificamente a CD83 e similares.

[0160] O domínio de sinalização intracelular pode compreender a totalidade da porção intracelular, ou a totalidade do domínio de sinalização intracelular nativo, da molécula de onde é derivado, ou um seu fragmento ou derivado funcional.

[0161] O termo "4-1BB" se refere a um membro da superfamília TNFR com uma sequência de aminoácidos proporcionada como GenBank Nº de Acesso AAA62478.2, ou os resíduos equivalentes de

uma espécie não humana, por exemplo, camundongo, roedor, macaco, símio e similares; e um "domínio coestimulador de 4-1BB" é definido como os resíduos de aminoácidos 214-255 de GenBank Nº de acesso AAA62478.2, ou os resíduos equivalentes de uma espécie não humana, por exemplo, camundongo, roedor, macaco, símio e similares. Em um aspecto, o "domínio coestimulador 4-1BB" é a sequência fornecida como SEQ ID Nº: 14, ou os resíduos equivalentes de uma espécie não humana, por exemplo, camundongo, roedor, macaco, símio e similares.

[0162] "Célula efetora imune", tal como o termo é usado aqui, se relaciona com uma célula que está envolvida em uma resposta imune, por exemplo, na promoção de uma resposta imune efetora. Exemplos de células efetoras imunes incluem células T, por exemplo, células T alfa/beta e células T gama/delta, células B, células matadoras naturais (NK), células T matadoras naturais (NKT), mastócitos e fagócitos derivados da linhagem mieloide.

[0163] "Função imune efetora ou resposta imune efetora", tal como o termo é usado aqui, se relaciona com função ou resposta, por exemplo, de uma célula efetora imune, que intensifica ou promove um ataque imune de uma célula-alvo. Por exemplo, uma função ou resposta efetora imune se refere a uma propriedade de uma célula T ou NK que promove a morte ou a inibição do crescimento ou proliferação de uma célula-alvo. No caso de uma célula T, estimulação e coestimulação primárias são exemplos de função ou resposta efetora imune.

[0164] O termo "codificando" se relaciona com a propriedade inerente de sequências específicas de nucleotídeos em um polinucleotídeo, como um gene, um cDNA ou um mRNA, para servir como moldes para a síntese de outros polímeros e macromoléculas em processos biológicos tendo uma sequência definida de nucleotídeos (por exemplo, rRNA, tRNA e mRNA) ou uma sequência definida de aminoácidos e as propriedades biológicas daí resultantes. Assim, um

gene, cDNA ou RNA, codifica uma proteína se a transcrição e tradução do mRNA correspondente a esse gene produzirem a proteína em uma célula ou outro sistema biológico. Tanto a fita codificadora, cuja sequência de nucleotídeos é idêntica à sequência de mRNA e é habitualmente fornecida em listagens de sequências, como a fita não codificadora, utilizada como modelo para a transcrição de um gene ou cDNA, podem ser referidas como codificando a proteína ou outro produto desse gene ou cDNA.

[0165] A menos que especificado de outro modo, uma "sequência nucleotídica codificando uma sequência de aminoácidos" inclui todas as sequências de nucleotídeos que são versões degeneradas umas das outras e que codificam a mesma sequência de aminoácidos. A frase sequência de nucleotídeos que codifica uma proteína ou um RNA também pode incluir íntrons À medida quea sequência de nucleotídeos codificando a proteína pode, em algumas versões, conter íntron(s).

[0166] Os termos "quantidade eficaz" ou "quantidade terapeuticamente eficaz" são aqui usados indistintamente, e se relacionam com uma quantidade de um composto, formulação, material ou composição, como aqui descrito, eficaz para alcançar um resultado biológico particular.

[0167] O termo "endógeno" refere-se a qualquer material de ou produzido dentro de um organismo, célula, tecido ou sistema.

[0168] O termo "exógeno" refere-se a qualquer material introduzido de ou produzido fora de um organismo, célula, tecido ou sistema.

[0169] O termo "expressão" se relaciona com a transcrição e/ou tradução de uma sequência particular de nucleotídeos dirigida por um promotor.

[0170] O termo "vetor de transferência" se relaciona com uma composição de matéria que compreende um ácido nucleico isolado e que pode ser utilizada para distribuir o ácido nucleico isolado no interior

de uma célula. Numerosos vetores são conhecidos na técnica, incluindo, mas não limitados a, polinucleotídeos lineares, polinucleotídeos associados a compostos iônicos ou anfifílicos, plasmídeos e vírus. Assim, o termo "vetor de transferência" inclui um plasmídeo ou um vírus de replicação autônoma. O termo também deve ser entendido como incluindo adicionalmente compostos não plasmídicos e não virais que facilitam a transferência de ácido nucleico para células, tal como, por exemplo, um composto de polilisina, lipossomo e semelhantes. Exemplos de vetores de transferência virais incluem, mas não estão limitados a, vetores adenovirais, vetores de vírus adenoassociados, vetores retrovirais, vetores lentivirais e semelhantes.

[0171] O termo "vetor de expressão" se relaciona com um vetor compreendendo um polinucleotídeo recombinante compreendendo sequências de controle da expressão operativamente ligadas a uma sequência de nucleotídeos a ser expressa. Um vetor de expressão compreende elementos de atuação cis suficientes para expressão; outros elementos para expressão podem ser fornecidos pela célula hospedeira ou em um sistema de expressão *in vitro*. Vetores de expressão incluem todos os conhecidos na técnica, incluindo cosmídeos, plasmídeos (por exemplo, nus ou contidos em lipossomos) e vírus (por exemplo, lentivírus, retrovírus, adenovírus e vírus adenoassociados) que incorporam o polinucleotídeo recombinante.

[0172] O termo "lentivírus" se relaciona com um gênero da família *Retroviridae*. Lentivírus são únicos entre os retrovírus por serem capazes de infectar células não se dividindo; podem fornecer uma quantidade significativa de informação genética ao DNA da célula hospedeira, de modo que são um dos métodos mais eficientes de um vetor de transferência genética. HIV, SIV e FIV são todos exemplos de lentivírus.

[0173] O termo "vetor lentiviral" se relaciona com um vetor derivado de pelo menos uma porção de um genoma de um lentivírus, incluindo especialmente um vetor lentiviral autoinativador como proporcionado em Milone *et al., Mol. Ther.* 17(8): 1453-1464 (2009). Outros exemplos de vetores de lentivírus que podem ser usados na clínica, incluem, mas não se limitam a, por exemplo, a tecnologia de transferência genética LENTIVECTOR® da Oxford BioMedica, o sistema de vetores LENTIMAX™ da Lentigen e similares. Tipos não clínicos de vetores lentivirais também estão disponíveis e serão conhecidos do perito na técnica.

[0174] O termo "homólogo" ou "identidade" se relaciona com a identidade da sequência de subunidades entre duas moléculas poliméricas, por exemplo, entre duas moléculas de ácido nucleico, tais como, duas moléculas de DNA ou duas moléculas de RNA, ou entre duas moléculas polipeptídicas. Quando uma posição de subunidade em ambas as moléculas é ocupada pela mesma subunidade monomérica; por exemplo, se uma posição em cada uma das duas moléculas de DNA é ocupada por adenina, então são homólogas ou idênticas nessa posição. A homologia entre duas sequências é uma função direta do número de posições correspondentes ou homólogas; por exemplo, se metade (por exemplo, cinco posições em um polímero com dez subunidades de comprimento) das posições em duas sequências forem homólogas, as duas sequências são 50% homólogas; se 90% das posições (por exemplo, 9 de 10) forem correspondentes ou homólogas, as duas sequências são 90% homólogas.

[0175] Formas "humanizadas" de anticorpos não humanos (por exemplo, murinos) são imunoglobulinas quiméricas, cadeias de imunoglobulinas ou seus fragmentos (tais como Fv, Fab, Fab', F(ab')2 ou outras subsequências de ligação a antígenos de anticorpos) que contêm uma sequência mínima derivada de imunoglobulina não

humana. Na sua maior parte, anticorpos humanizados e seus fragmentos de anticorpos são imunoglobulinas humanas (anticorpo ou fragmento de anticorpo recebedor) em que resíduos de uma região determinante de complementaridade (CDR) do recebedor são substituídos por resíduos de uma CDR de uma espécie não humana (anticorpo doador), tal como camundongo, rato ou coelho tendo a especificidade, afinidade e capacidade desejadas. Em alguns casos, resíduos da região de arcabouço (FR) de Fv da imunoglobulina humana são substituídos por resíduos não humanos correspondentes. Adicionalmente, um anticorpo/fragmento de anticorpo humanizado pode compreender resíduos que não se encontram no anticorpo recebedor nem nas sequências CDR ou de arcabouço importadas. Estas modificações podem adicionalmente refinar e otimizar o desempenho de um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Em geral, o anticorpo humanizado ou seu fragmento de anticorpo compreenderá substancialmente todos de pelo menos um, e tipicamente dois, domínios variáveis, em que a totalidade ou substancialmente todas as regiões CDR correspondem às de uma imunoglobulina não humana e a totalidade ou uma porção significativa das regiões FR são as de uma sequência de imunoglobulina humana. O anticorpo ou fragmento de anticorpo humanizado também pode compreender pelo menos uma porção de uma região constante (Fc) de imunoglobulina, tipicamente a de uma imunoglobulina humana. Quanto a mais detalhes ver Jones *et al., Nature*, 321: 522-525, 1986; Reichmann *et al., Nature*, 332: 323-329, 1988; Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2: 593-596, 1992.

[0176] "Totalmente humana" se relaciona com uma imunoglobulina, tal como um anticorpo ou fragmento de anticorpo, na qual toda a molécula é de origem humana ou consiste em uma sequência de aminoácidos idêntica a uma forma humana do anticorpo ou imunoglobulina.

[0177] O termo "isolado" significa alterado ou removido do estado natural. Por exemplo, um ácido nucleico ou um peptídeo naturalmente presente em um animal vivo não está "isolado ", mas o mesmo ácido nucleico ou peptídeo parcial ou completamente separado dos materiais coexistentes de seu estado natural está "isolado ". Um ácido nucleico ou proteína isolado pode existir em forma substancialmente purificada, ou pode existir em um ambiente não nativo tal como, por exemplo, uma célula hospedeira.

[0178] No contexto da presente invenção, as seguintes abreviaturas para as bases de ácidos nucleicos de ocorrência comum são usadas. "A" se refere à adenosina, "C" se refere à citosina, "G" se refere à guanosina, "T" se refere à timidina, e "U" se refere à uridina.

[0179] O termo "operacionalmente ligado" ou "controle de transcrição" refere-se à ligação funcional entre uma sequência reguladora e uma sequência de ácido nucleico heteróloga resultando na expressão da última. Por exemplo, uma primeira sequência de ácido nucleico está operacionalmente ligada a uma segunda sequência de ácido nucleico quando a primeira sequência de ácido nucleico é colocada em uma relação funcional com a segunda sequência de ácido nucleico. Por exemplo, um promotor está operacionalmente ligado a uma sequência de codificação se o promotor afetar a transcrição ou expressão da sequência de codificação. Sequências de DNA ligadas operativamente podem ser contíguas entre si e, por exemplo, quando for necessário unir duas regiões codificadoras de proteínas, estão no mesmo quadro de leitura.

[0180] O termo administração "parentérica" de uma composição imunogênica inclui, por exemplo, técnicas de injeção subcutânea (s.c.), intravenosa (i.v.), intramuscular (i.m.) ou intraesterno, intratumoral ou de infusão.

[0181] O termo "ácido nucleico" ou "polinucleotídeo" se relaciona

com ácidos desoxirribonucleicos (DNA) ou ácidos ribonucleicos (RNA) e seus polímeros na forma de fita simples ou dupla. A menos que especificamente limitado, o termo abrange ácidos nucleicos contendo análogos conhecidos de nucleotídeos naturais que têm propriedades de ligação semelhantes às do ácido nucleico de referência e são metabolizados de uma maneira semelhante aos nucleotídeos de ocorrência natural. A menos que indicado de outro modo, uma sequência de ácido nucleico particular também abrange implicitamente variantes conservativamente modificadas destes (por exemplo, substituições de códons degenerados), alelos, ortólogos, SNPs e sequências complementares, assim como a sequência indicada explicitamente. Especificamente, podem ser obtidas substituições de códons degenerados gerando sequências em que a terceira posição de um ou mais códons selecionados (ou todos) é substituída por resíduos de bases mistas e/ou desóxi-inosina (Batzer *et al., Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka *et al., J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); e Rossolini *et al., Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994)).

[0182] Os termos "peptídeo", "polipeptídeo" e "proteína" são utilizados alternadamente e se relacionam com um composto constituído por resíduos de aminoácidos ligados covalentemente por ligações peptídicas. Uma proteína ou peptídeo deve conter, pelo menos, dois aminoácidos, e nenhuma limitação é colocada no número máximo de aminoácidos que uma sequência de proteína ou peptídeo pode compreender. Polipeptídeos incluem qualquer peptídeo ou proteína compreendendo dois ou mais aminoácidos ligados uns aos outros por ligações peptídicas. Como aqui usado, o termo se relaciona com cadeias curtas, que também são vulgarmente referidas na técnica como peptídeos, oligopeptídeos e oligômeros, por exemplo, e com cadeias mais longas, que geralmente são referidas na técnica como proteínas, das quais há muitos tipos. "Polipeptídeos" incluem, por exemplo,

fragmentos biologicamente ativos, polipeptídeos substancialmente homólogos, oligopeptídeos, homodímeros, heterodímeros, variantes de polipeptídeos, polipeptídeos modificados, derivados, análogos, proteínas de fusão, entre outros. Um polipeptídeo inclui um peptídeo natural, um peptídeo recombinante ou uma combinação destes.

[0183] O termo "promotor" se relaciona com uma sequência de DNA reconhecida pela maquinaria sintética da célula ou maquinaria sintética introduzida, requerida para iniciar a transcrição específica de uma sequência polinucleotídica.

[0184] O termo "sequência promotora/reguladora" se relaciona com uma sequência de ácido nucleico que é necessária para expressão de um produto genético operativamente ligado à sequência promotora/reguladora. Em alguns casos, esta sequência pode ser a sequência principal do promotor e, em outros casos, esta sequência pode também incluir uma sequência intensificadora e outros elementos reguladores que são necessários para a expressão do produto genético. A sequência promotora/reguladora pode, por exemplo, ser uma que expresse o produto do gene de um modo específico para o tecido.

[0185] O termo promotor "constitutivo" se relaciona com uma sequência de nucleotídeos que, quando operativamente ligada a um polinucleotídeo que codifica ou especifica um produto genético, faz com que o produto genético seja produzido em uma célula na maioria ou em todas as condições fisiológicas da célula.

[0186] O termo promotor "induzível" se relaciona com uma sequência de nucleotídeos que, quando operativamente ligada a um polinucleotídeo que codifica ou especifica um produto genético, faz com que o produto genético seja produzido em uma célula substancialmente apenas quando um indutor que corresponde ao promotor está presente na célula.

[0187] O termo promotor "específico para tecidos" se relaciona com uma sequência de nucleotídeos que, quando operativamente ligada a um polinucleotídeo que codifica ou especificado por um gene, faz com que o produto genético seja produzido em uma célula substancialmente apenas se a célula for uma célula do tipo de tecido correspondente ao promotor.

[0188] Os termos "antígeno associado a câncer" ou "antígeno tumoral" se relacionam indistintamente com uma molécula (tipicamente uma proteína, carbo-hidrato ou lipídeo) que é expressa na superfície de uma célula cancerígena, quer inteiramente quer como um fragmento (por exemplo, MHC/peptídeo), e que é útil para o direcionamento preferencial de um agente farmacológico para a célula cancerígena. Em algumas modalidades, um antígeno tumoral é um marcador expresso tanto por células normais como por células cancerígenas, por exemplo, um marcador de linhagem, por exemplo, CD19 em células B. Em algumas modalidades, um antígeno tumoral é uma molécula de superfície celular que está sobre-expressa em uma célula cancerígena em comparação com uma célula normal, por exemplo, sobre-expressão de uma vez, sobre-expressão de duas vezes, sobre-expressão de 3 vezes ou mais em comparação com uma célula normal. Em algumas modalidades, um antígeno tumoral é uma molécula da superfície celular que é sintetizada de forma inapropriada na célula cancerígena, por exemplo, uma molécula que contém deleções, adições ou mutações em comparação com a molécula expressa em uma célula normal. Em algumas modalidades, um antígeno tumoral será expresso exclusivamente na superfície celular de uma célula cancerígena, inteiramente ou como um fragmento (por exemplo, MHC/peptídeo), e não sintetizado ou expresso na superfície de uma célula normal. Em algumas modalidades, os CARs da presente invenção incluem CARs compreendendo um domínio de ligação a antígenos (por exemplo, anticorpo ou fragmento de anticorpo) que se liga

a um peptídeo apresentado em MHC. Normalmente, peptídeos derivados de proteínas endógenas enchem as bolsas de moléculas de complexo de histocompatibilidade principal (MHC) de classe I e são reconhecidos por receptores de células T (TCRs) em linfócitos T CD8+. Os complexos de MHC de classe I são constitutivamente expressos por todas as células nucleadas. No câncer, complexos peptídeo/MHC específicos para vírus e/ou específicos para tumor representam uma classe única de alvos de superfície celular para imunoterapia. Foram descritos anticorpos tipo TCR visando peptídeos derivados de antígenos virais ou tumorais no contexto de antígeno de leucócitos humanos (HLA)-A1 ou HLA-A2 (ver, por exemplo, Sastry *et al., J Virol.* 2011 85(5):1935-1942; Sergeeva *et al., Blood*, 2011 117(16):4262-4272; Verma *et al., J Immunol* 2010 184(4):2156-2165; Willemsen *et al., Gene Ther* 2001 8(21):1601-1608; Dao *et al., Sci Transl Med* 2013 5(176): 176ra33; Tassev *et al., Cancer Gene Ther* 2012 19(2):84-100). Por exemplo, anticorpo tipo TCR pode ser identificado a partir do rastreio de uma biblioteca, tal como uma biblioteca de exibição de fagos de scFv humano.

[0189] O termo "antígeno suportando um tumor" ou "antígeno suportando um câncer" se relaciona indistintamente com uma molécula (tipicamente uma proteína, carbo-hidrato ou lipídeo) que é expressa na superfície de uma célula que é, ela própria, não cancerígena mas que suporta as células cancerígenas, por exemplo, por promoção do seu crescimento ou sobrevivência, por exemplo, resistência a células imunes. Células exemplificativas deste tipo incluem células estromais e células supressoras derivadas de mieloide (MDSCs). O próprio antígeno suportando um tumor não necessita de desempenhar um papel no suporte das células tumorais desde que o antígeno esteja presente em uma célula que suporta células cancerígenas.

[0190] O termo "ligante polipeptídico flexível" ou "ligante", como

usado no contexto de um scFv, se relaciona com um ligante peptídico que consiste em aminoácidos tais como resíduos glicina e/ou serina usados isoladamente ou em combinação, para ligar em conjunto regiões de cadeia pesada variável e leve variável. Em uma modalidade, o ligante polipeptídico flexível é um ligante Gly/Ser e compreende a sequência de aminoácidos $(Gly\text{-}Gly\text{-}Gly\text{-}Ser)_n$, em que n é um número inteiro positivo igual a ou maior do que 1. Por exemplo, n = 1, n = 2, n = 3, n = 4, n = 5 e n = 6, n = 7, n = 8, n = 9 e n = 10 (SEQ ID Nº:28). Em uma modalidade, os ligantes polipeptídicos flexíveis incluem, mas não se limitam a, (Gly4 Ser)4 (SEQ ID Nº:29) ou (Gly4 Ser)3 (SEQ ID Nº:30). Em outra modalidade, os ligantes incluem múltiplas repetições de (Gly2Ser), (GlySer) ou (Gly3Ser) (SEQ ID Nº:31). Também estão incluídos no escopo da invenção ligantes descritos em WO2012/138475 (incorporado aqui por referência).

[0191] Como usado aqui, um *cap* 5' (também denominado *cap* de RNA, *cap* 7-metilguanosina de RNA ou um *cap* m^7G de RNA) é um nucleotídeo de guanina modificado que foi adicionado à "frente" ou na extremidade 5' de um RNA mensageiro eucariótico logo após o início da transcrição. O *cap* 5' consiste em um grupo terminal que está ligado ao primeiro nucleotídeo transcrito. Sua presença é crucial para o reconhecimento pelo ribossomo e proteção de RNases. A adição de *cap* está acoplada à transcrição e ocorre de modo cotranscrição, de tal forma que cada um influencia o outro. Logo após o início da transcrição, a extremidade 5' do mRNA sendo sintetizado é ligada por um complexo sintetizador de *cap* associado a RNA polimerase. Este complexo enzimático catalisa as reações químicas que são necessárias para o *capping* de mRNA. A síntese prossegue como uma reação bioquímica de múltiplos passos. A fração de *capping* pode ser modificada para modular a funcionalidade de mRNA, tal como a sua estabilidade ou a eficiência da tradução.

[0192] Como usado aqui, "RNA transcrito *in vitro*" se relaciona com RNA, preferencialmente mRNA, que foi sintetizado *in vitro*. Geralmente, o RNA transcrito *in vitro* é gerado a partir de um vetor de transcrição *in vitro*. O vetor de transcrição *in vitro* compreende um molde que é utilizado para gerar o RNA transcrito *in vitro*.

[0193] Como usado aqui, uma "poli(A)" é uma série de adenosinas ligadas por poliadenilação ao mRNA. Na modalidade preferencial de um construto para expressão transiente, a poliA tem entre 50 e 5000 (SEQ ID Nº: 34), de preferência superior a 64, mais preferencialmente superior a 100, muito preferencialmente superior a 300 ou 400. As sequências poli(A) podem ser modificadas química ou enzimaticamente para modular a funcionalidade do mRNA, tal como localização, estabilidade ou eficiência da tradução.

[0194] Como usado aqui, "poliadenilação" se relaciona com a ligação covalente de uma fração poliadenilila, ou sua variante modificada, a uma molécula de RNA mensageiro. Em organismos eucarióticos, a maioria das moléculas de RNA mensageiro (mRNA) são poliadeniladas na extremidade 3'. A cauda 3' poli(A) é uma longa sequência de nucleotídeos adenina (muitas vezes várias centenas) adicionada ao pré-mRNA através da ação de uma enzima, poliadenilato polimerase. Em eucariotas superiores, a cauda poli(A) é adicionada a transcritos que contêm uma sequência específica, o sinal de poliadenilação. A cauda poli(A) e a proteína ligada a ela ajudam a proteger o mRNA da degradação por exonucleases. A poliadenilação também é importante para a terminação da transcrição, exportação do mRNA do núcleo e tradução. A poliadenilação ocorre no núcleo imediatamente após a transcrição do DNA em RNA, mas adicionalmente também pode ocorrer mais tarde no citoplasma. Após a terminação da transcrição, a cadeia de mRNA é clivada pela ação de um complexo de endonuclease associado a RNA polimerase. O sítio de

clivagem é geralmente caracterizado pela presença da sequência de bases AAUAAA perto do sítio de clivagem. Após a clivagem do mRNA, os resíduos de adenosina são adicionados à extremidade 3' livre no sítio de clivagem.

[0195] Como usado aqui, "transiente" se relaciona com expressão de um transgene não integrado durante um período de horas, dias ou semanas, em que o período de tempo da expressão é menor do que o período de tempo para a expressão do gene se integrado no genoma ou contido dentro de um réplicon de plasmídeo estável na célula hospedeira.

[0196] Como usado aqui, os termos "tratar", "tratamento" e "tratando" referem-se à redução ou melhoria da progressão, gravidade e/ou duração de uma doença proliferativa, ou a melhoria de um ou mais sintomas (preferencialmente, um ou mais sintomas discerníveis) de uma doença proliferativa resultante da administração de uma ou mais terapias (por exemplo, um ou mais agentes terapêuticos, tal como um CAR da invenção). Em modalidades específicas, os termos "tratar", "tratamento" e "tratando" se referem à melhoria de pelo menos um parâmetro físico mensurável de uma disfunção proliferativa, tal como crescimento de um tumor, não necessariamente discernível pelo paciente. Em outras modalidades, os termos "tratar", "tratamento" e "tratando" se referem à inibição da progressão de uma disfunção proliferativa, seja fisicamente por, por exemplo, estabilização de um sintoma discernível, fisiologicamente por, por exemplo, estabilização de um parâmetro físico ou ambos. Em outras modalidades, os termos "tratar", "tratamento" e "tratando" se referem à redução ou estabilização do tamanho tumoral ou contagem de células cancerosas.

[0197] O termo "via de transdução de sinal" se relaciona com a relação bioquímica entre uma variedade de moléculas de transdução de sinal que desempenham um papel na transmissão de um sinal de uma

porção de uma célula para outra porção de uma célula. A frase "receptor da superfície celular" inclui moléculas e complexos de moléculas capazes de receber um sinal e transmitir o sinal através da membrana de uma célula.

[0198] O termo "sujeito" pretende incluir organismos vivos nos quais uma resposta imune pode ser desencadeada (por exemplo, mamíferos, humano).

[0199] O termo uma célula "substancialmente purificada" se relaciona com uma célula que está essencialmente desprovida de outros tipos de células. Uma célula substancialmente purificada também se refere a uma célula que foi separada de outros tipos de células com os quais está normalmente associada no seu estado de ocorrência natural. Em alguns casos, uma população de células substancialmente purificadas refere-se a uma população homogênea de células. Em outros casos, este termo refere-se simplesmente a células que foram separadas das células com as quais estão naturalmente associadas em seu estado natural. Em alguns aspectos, as células são cultivadas *in vitro*. Em outros aspectos, as células não são cultivadas *in vitro*.

[0200] O termo "terapêutico" como usado aqui significa um tratamento. Um efeito terapêutico é obtido pela redução, supressão, remissão ou erradicação de um estado de doença.

[0201] O termo "profilaxia" como aqui utilizado significa a prevenção ou tratamento protetor para uma doença ou estado de doença.

[0202] No contexto da presente invenção, "antígeno tumoral" ou "antígeno de distúrbio hiperproliferativo" ou "antígeno associado a um distúrbio hiperproliferativo" se relaciona com antígenos que são comuns a distúrbios hiperproliferativos específicos. Em certos aspectos, os antígenos de distúrbios hiperproliferativos da presente invenção são derivados de cânceres incluindo, mas não se limitando a, melanoma primário ou metastático, timoma, linfoma, sarcoma, câncer do pulmão,

câncer do fígado, linfoma de não Hodgkin, linfoma de Hodgkin, leucemias, câncer uterino, câncer cervical, câncer da bexiga, câncer do rim e adenocarcinomas tais como câncer da mama, câncer da próstata, câncer do ovário, câncer pancreático e similares.

[0203] O termo "transfectado" ou "transformado" ou "transduzido" se relaciona com um processo pelo qual ácido nucleico exógeno é transferido ou introduzido na célula hospedeira. Uma célula "transfectada" ou "transformada" ou "transduzida" é tal que foi transfectada, transformada ou transduzida com ácido nucleico exógeno. A célula inclui a célula principal em questão e sua descendência.

[0204] O termo "se liga especificamente a" se relaciona com um anticorpo, ou um ligante, que reconhece e se liga a uma proteína parceira de ligação (por exemplo, um antígeno tumoral) presente em uma amostra, mas cujo anticorpo ou ligante não reconhece nem se liga substancialmente a outras moléculas da amostra.

[0205] "Receptor de antígeno quimérico (RCAR) regulável", tal como o termo é usado aqui, se relaciona com um conjunto de polipeptídeos, tipicamente dois nas modalidades mais simples, que quando em uma célula RCARX, dota a célula RCARX de especificidade para uma célula-alvo, tipicamente uma célula cancerígena, e com geração ou proliferação do sinal intracelular regulável, que pode otimizar uma propriedade efetora imune da célula RCARX. Uma célula RCARX se baseia, pelo menos em parte, em um domínio de ligação a antígenos para proporcionar especificidade para uma célula-alvo que compreende o antígeno ligado pelo domínio de ligação a antígenos. Em uma modalidade, um RCAR inclui um interruptor de dimerização que, na presença de uma molécula de dimerização, pode acoplar um domínio de sinalização intracelular ao domínio de ligação a antígenos.

[0206] "Âncora de membrana" ou "domínio de fixação de membrana", tal como o termo é usado aqui, se refere a um polipeptídeo

ou fração, por exemplo, um grupo miristoíla, suficiente para ancorar um domínio extracelular ou intracelular à membrana plasmática.

[0207] "Domínio de interruptor", tal como o termo é usado aqui, por exemplo, quando se refere a um RCAR, se refere a uma entidade, tipicamente uma entidade à base de um polipeptídeo, que, na presença de uma molécula de dimerização, se associa a outro domínio de interruptor. A associação resulta em um acoplamento funcional de uma primeira entidade ligada, por exemplo, fundida, a um primeiro domínio de interruptor, e uma segunda entidade ligada, por exemplo, fundida, a um segundo domínio de interruptor. Um primeiro e segundo domínios de interruptor são coletivamente referidos como interruptor de dimerização. Em modalidades, o primeiro e segundo domínios de interruptor são iguais entre si, por exemplo, são polipeptídeos tendo a mesma sequência primária de aminoácidos, e são referidos coletivamente como interruptor de homodimerização. Em modalidades, o primeiro e segundo domínios de interruptor são diferentes entre si, por exemplo, são polipeptídeos tendo diferentes sequências primárias de aminoácidos, e são referidos coletivamente como interruptor de heterodimerização. Em modalidades, o interruptor é intracelular. Em modalidades, o interruptor é extracelular. Em modalidades, o domínio de interruptor é uma entidade baseada em um polipeptídeo, por exemplo, baseada em FKBP ou FRB, e a molécula de dimerização é uma molécula pequena, por exemplo, um rapálogo. Em modalidades, o domínio de interruptor é uma entidade baseada em um polipeptídeo, por exemplo, um scFv que se liga a um peptídeo myc, e a molécula de dimerização é um polipeptídeo, um seu fragmento, ou um multímero de um polipeptídeo, por exemplo, um ligante de myc ou multímeros de um ligante de myc que se ligam a um ou mais scFvs de myc. Em modalidades, o domínio de interruptor é uma entidade baseada em um polipeptídeo, por exemplo, receptor de myc, e a molécula de

dimerização é um anticorpo ou seus fragmentos, por exemplo, anticorpo para myc.

[0208] "Molécula de dimerização", tal como o termo é usado aqui, por exemplo, quando se referindo a um RCAR, se refere a uma molécula que promove a associação de um primeiro domínio de interruptor a um segundo domínio de interruptor. Em modalidades, a molécula de dimerização não ocorre naturalmente no sujeito, ou não ocorre em concentrações que irão originar dimerização significativa. Em modalidades, a molécula de dimerização é uma molécula pequena, por exemplo, rapamicina ou um rapálogo, por exemplo, RAD001.

[0209] O termo "bioequivalente" refere-se a uma quantidade de um agente diferente do composto de referência (por exemplo, RAD001), necessária para produzir um efeito equivalente ao efeito produzido pela dose de referência ou quantidade de referência do composto de referência (por exemplo, RAD001). Em uma modalidade, o efeito é o nível de inibição de mTOR, por exemplo, como medido por inibição de quinase P70 S6, por exemplo, como avaliado em um ensaio *in vivo* ou *in vitro*, por exemplo, como medido por um ensaio aqui descrito, por exemplo, o ensaio de Boulay. Em uma modalidade, o efeito é alteração da proporção de células T PD-1 positivas/PD-1 negativas, como medido por separação celular. Em uma modalidade, uma quantidade ou dose bioequivalente de um inibidor de mTOR é a quantidade ou dose que alcança o mesmo nível de inibição de quinase P70 S6 da dose de referência ou quantidade de referência de um composto de referência. Em uma modalidade, uma quantidade ou dose bioequivalente de um inibidor de mTOR é a quantidade ou dose que alcança o mesmo nível de alteração da proporção de células T PD-1 positivas/PD-1 negativas da dose de referência ou quantidade de referência de um composto de referência.

[0210] O termo "dose baixa intensificadora de imunidade" quando

usado em conjunto com um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, RAD001 ou rapamicina, ou um inibidor de mTOR catalítico, refere-se a uma dose de inibidor de mTOR que inibe parcial, mas não totalmente, a atividade de mTOR, por exemplo, como medida pela inibição de atividade de quinase P70 S6. São aqui discutidos métodos para avaliar a atividade de mTOR, por exemplo, por inibição de quinase P70 S6. A dose é insuficiente para resultar em supressão imunológica completa, mas é suficiente para intensificar a resposta imunológica. Em uma modalidade, a dose baixa intensificadora de imunidade de inibidor de mTOR resulta em uma redução do número de células T PD-1 positivas e/ou um aumento do número de células T PD-1 negativas, ou um aumento da proporção de células T PD-1 negativas/células T PD-1 positivas. Em uma modalidade, a dose baixa intensificadora de imunidade de inibidor de mTOR resulta em um aumento do número de células T sem tratamento prévio. Em uma modalidade, a dose baixa intensificadora de imunidade de inibidor de mTOR resulta em um ou mais dos seguintes:

um aumento da expressão de um ou mais dos seguintes marcadores: $CD62L^{elevado}$, $CD127^{elevado}$, $CD27^{+}$ e BCL2, por exemplo, em células T de memória, por exemplo, precursores de células T de memória;

uma redução na expressão de KLRG1, por exemplo, em células T de memória, por exemplo, precursores de células T de memória; e

um aumento no número de precursores de células T de memória, por exemplo, células com qualquer uma ou uma combinação das seguintes características: $CD62L^{elevado}$ aumentado, $CD127^{elevado}$ aumentado, $CD27^{+}$ aumentado, KLRG1 reduzido e BCL2 aumentado;

em que qualquer uma das alterações descritas acima ocorre, por exemplo, pelo menos transitoriamente, por exemplo, em comparação com um sujeito não tratado.

[0211] "Refratário", como aqui usado, se relaciona com uma

doença, por exemplo, câncer, que não responde a um tratamento. Em modalidades, um câncer refratário pode ser resistente a um tratamento antes ou no início do tratamento. Em outras modalidades, o câncer refratário pode se tornar resistente durante um tratamento. Um câncer refratário também é designado de câncer resistente.

[0212] "Recidiva" como aqui utilizado refere-se ao retorno de uma doença (por exemplo, câncer) ou aos sinais e sintomas de uma doença, tal como um câncer após um período de melhoria, por exemplo, após tratamento prévio de uma terapia, por exemplo, terapia de câncer.

[0213] Intervalos: ao longo desta revelação, vários aspectos da invenção podem ser apresentados em um formato de intervalo. Deve ser entendido que a descrição em formato de intervalo é meramente por conveniência e brevidade e não deve ser interpretada como uma limitação inflexível no escopo da invenção. Por conseguinte, a descrição de um intervalo deve ser considerada como tendo revelado especificamente todos os possíveis subintervalos, bem como valores numéricos individuais dentro desse intervalo. Por exemplo, a descrição de um intervalo tal como de 1 a 6 deve ser considerada como tendo subintervalos especificamente revelados, como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6 etc., bem como números individuais dentro desse intervalo, por exemplo, 1, 2, 2,7, 3, 4, 5, 5,3 e 6. Como outro exemplo, um intervalo tal como 95-99% de identidade, inclui algo com 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade e inclui subintervalos como 96-99%, 96-98%, 96-97%, 97-99%, 97-98% e 98-99% de identidade. Isso se aplica independentemente da amplitude do intervalo.

[0214] Como usado aqui, o termo "IFNG", "interferon gama" ou "IFN-γ" se relaciona com o gene IFNG e a proteína codificada pelo gene. No genoma humano, o IFNG está localizado no cromossomo 12q15. Uma sequência de IFNG exemplificativa é proporcionada no número da Genebank: NM_000619.2.

[0215] Como usado aqui, o termo "NOTCH2", "proteína homóloga de notch de lócus neurogênico 2" ou "hN2" se relaciona com o gene NOTCH2 e a proteína codificada pelo gene. No genoma humano, o NOTCH2 está localizado no cromossomo 1p12. Duas isoformas de Notch2 exemplificativas são proporcionadas nos números da Genebank: NM_001200001.1 e NM_024408.3.

[0216] Como usado aqui, o termo "IL2RA", "receptor de interleucina-2 subunidade alfa", "IL-2-RA" ou "IL2-RA" se relaciona com o gene IL2RA e a proteína codificada pelo gene. Também é conhecido como "CD25", "antígeno TAC" ou "p55". No genoma humano, o IL2RA está localizado no cromossomo 10p15.1. Três isoformas de IL2RA exemplificativas são proporcionadas nos números da Genebank: NM_000417.2, NM_001308242.1 e NM_001308243.1.

[0217] Como usado aqui, o termo "PRDM1" ou "proteína dedo de zinco do domínio PR 1" se relaciona com o gene PRDM1 e a proteína codificada pelo gene. Também é conhecido como "BLIMP-1", "Fator de ligação ao domínio regulador positivo I do gene beta interferon", "proteína contendo o domínio PR 1", "fator de ligação ao domínio regulador positivo I 1", "PRDI-BF1" e "fator de ligação a PRDI 1". No genoma humano, o PRDM1 está localizado no cromossomo 6q21. Quatro isoformas de PRDM1 exemplificativas são proporcionadas nos números da Genebank: NM_001198.3, NM_182907.2, XM_011536063.2 e XM_017011187.1.

[0218] "Tet", tal como o termo é usado aqui, se relaciona com a família de genes, e as proteínas codificadas por tais genes, da família de metilcitosina dioxigenases de dez-onze translocações. Tet inclui, por exemplo, Tet1, Tet2 e Tet3.

[0219] "Tet2", como o termo é usado aqui, se relaciona com o gene metilcitosina dioxigenase tet 2, e a proteína codificada pelo referido gene, a metilcitosina dioxigenase tet2, que catalisa a conversão de

metilcitosina em 5-hidroximetilcitosina. Por vezes também é referido como "KIAA1546", "FLJ20032" e "membro da família de oncogenes tet 2". A proteína codificada está envolvida na mielopoiese, e defeitos neste gene têm sido associados a vários distúrbios mieloproliferativos. No genoma humano, o TET2 está localizado no cromossomo 4q24. Presentemente foram descritas seis isoformas de TET2 e os seus números da Genebank são: NM_001127208.2; XM_005263082.1; XM_006714242.2; NM_017628.4; XM_011532044.1; e XM_011532043.1.

[0220] Um exemplo da sequência proteica de Tet2 humano é proporcionada como número de acesso da UniProt Q6N021:

```
        10         20         30         40         50
MEQDRTNHVE GNRLSPFLIP SPPICQTEPL ATKLQNGSPL PERAHPEVNG
        60         70         80         90        100
DTKWHSFKSY YGIPCMKGSQ NSRVSPDFTQ ESRGYSKCLQ NGGIKRTVSE
       110        120        130        140        150
PSLSGLLQIK KLKQDQKANG ERRNFGVSQE RNPGESSQPN VSDLSDKKES
       160        170        180        190        200
VSSVAQENAV KDFTSFSTHN CSGPENPELQ ILNEQEGKSA NYHDKNIVLL
       210        220        230        240        250
KNKAVLMPNG ATVSASSVEH THGELLEKTL SQYYPDCVSI AVQKTTSHIN
       260        270        280        290        300
AINSQATNEL SCEITHPSHT SGQINSAQTS NSELPPKPAA VVSEACDADD
       310        320        330        340        350
ADNASKLAAM LNTCSFQKPE QLQQQKSVFE ICPSPAENNI QGTTKLASGE
       360        370        380        390        400
EFCSGSSSNL QAPGGSSERY LKQNEMNGAY FKQSSVFTKD SFSATTTPPP
       410        420        430        440        450
PSQLLLSPPP PLPQVPQLPS EGKSTLNGGV LEEHHHYPNQ SNTTLLREVK
       460        470        480        490        500
IEGKPEAPPS QSPNPSTHVC SPSPMLSERP QNNCVNRNDI QTAGTMTVPL
       510        520        530        540        550
```

CSEKTRPMSE HLKHNPPIFG SSGELQDNCQ QLMRNKEQEI LKGRDKEQTR
560 570 580 590 600
DLVPPTQHYL KPGWIELKAP RFHQAESHLK RNEASLPSIL QYQPNLSNQM
610 620 630 640 650
TSKQYTGNSN MPGGLPRQAY TQKTTQLEHK SQMYQVEMNQ GQSQGTVDQH
660 670 680 690 700
LQFQKPSHQV HFSKTDHLPK AHVQSLCGTR FHFQQRADSQ TEKLMSPVLK
710 720 730 740 750
QHLNQQASET EPFSNSHLLQ HKPHKQAAQT QPSQSSHLPQ NQQQQQKLQI
760 770 780 790 800
KNKEEILQTF PHPQSNNDQQ REGSFFGQTK VEECFHGENQ YSKSSEFETH
810 820 830 840 850
NVQMGLEEVQ NINRRNSPYS QTMKSSACKI QVSCSNNTHL VSENKEQTTH
860 870 880 890 900
PELFAGNKTQ NLHHMQYFPN NVIPKQDLLH RCFQEQEQKS QQASVLQGYK
910 920 930 940 950
NRNQDMSGQQ AAQLAQQRYL IHNHANVFPV PDQGGSHTQT PPQKDTQKHA
960 970 980 990 1000
ALRWHLLQKQ EQQQTQQPQT ESCHSQMHRP IKVEPGCKPH ACMHTAPPEN
1010 1020 1030 1040 1050
KTWKKVTKQE NPPASCDNVQ QKSIIETMEQ HLKQFHAKSL FDHKALTLKS
1060 1070 1080 1090 1100
QKQVKVEMSG PVTVLTRQTT AAELDSHTPA LEQQTTSSEK TPTKRTAASV
1110 1120 1130 1140 1150
LNNFIESPSK LLDTPIKNLL DTPVKTQYDF PSCRCVEQII EKDEGPFYTH
1160 1170 1180 1190 1200
LGAGPNVAAI REIMEERFGQ KGKAIRIERV IYTGKEGKSS QGCPIAKWVV
1210 1220 1230 1240 1250
RRSSSEEKLL CLVRERAGHT CEAAVIVILI LVWEGIPLSL ADKLYSELTE
1260 1270 1280 1290 1300
TLRKYGTLTN RRCALNEERT CACQGLDPET CGASFSFGCS WSMYYNGCKF
1310 1320 1330 1340 1350
ARSKIPRKFK LLGDDPKEEE KLESHLQNLS TLMAPTYKKL APDAYNNQIE

```
      1360       1370       1380       1390       1400
YEHRAPECRL GLKEGRPFSG VTACLDFCAH AHRDLHNMQN GSTLVCTLTR
      1410       1420       1430       1440       1450
EDNREFGGKP EDEQLHVLPL YKVSDVDEFG SVEAQEEKKR SGAIQVLSSF
      1460       1470       1480       1490       1500
RRKVRMLAEP VKTCRQRKLE AKKAAAEKLS SLENSSNKNE KEKSAPSRTK
      1510       1520       1530       1540       1550
QTENASQAKQ LAELLRLSGP VMQQSQQPQP LQKQPPQPQQ QQRPQQQQPH
      1560       1570       1580       1590       1600
HPQTESVNSY SASGSTNPYM RRPNPVSPYP NSSHTSDIYG STSPMNFYST
      1610       1620       1630       1640       1650
SSQAAGSYLN SSNPMNPYPG LLNQNTQYPS YQCNGNLSVD NCSPYLGSYS
      1660       1670       1680       1690       1700
PQSQPMDLYR YPSQDPLSKL SLPPIHTLYQ PRFGNSQSFT SKYLGYGNQN
      1710       1720       1730       1740       1750
MQGDGFSSCT IRPNVHHVGK LPPYPTHEMD GHFMGATSRL PPNLSNPNMD
      1760       1770       1780       1790       1800
YKNGEHHSPS HIIHNYSAAP GMFNSSLHAL HLQNKENDML SHTANGLSKM
      1810       1820       1830       1840       1850
LPALNHDRTA CVQGGLHKLS DANGQEKQPL ALVQGVASGA EDNDEVWSDS
      1860       1870       1880       1890       1900
EQSFLDPDIG GVAVAPTHGS ILIECAKREL HATTPLKNPN RNHPTRISLV
      1910       1920       1930       1940       1950
FYQHKSMNEP KHGLALWEAK MAEKAREKEE ECEKYGPDYV PQKSHGKKVK
      1960       1970       1980       1990       2000
REPAEPHETS EPTYLRFIKS LAERTMSVTT DSTVTTSPYA FTRVTGPYNR
 2002
```

YI

[SEQ ID Nº: 1357]

[0221] O gene tet2 está localizado no cromossomo 4, localização GRCh38.p2 (GCF_000001405.28) (NC_000004.12 (105145875 até 105279803); Gene ID 54790.

[0222] Exemplos de sequências de ácidos nucleicos codificando

Tet2 são proporcionados abaixo. Há 6 isoformas identificadas de Tet2 humano. As sequências de mRNA são proporcionadas abaixo (em modalidades, em cada sequência, T pode ser substituído por U). Em modalidades, Tet2 inclui as proteínas codificadas por cada uma das sequências abaixo:

Nome	**Sequência de Referência do NCBI**	**Sequência**
Metilcitosina dioxigenase tet 2 (TET2) de *Homo sapiens*, variante de transcrito 1, mRNA [SEQ ID Nº: 1358]	NM_001127208.2	GGCAGTGGCAGCGGCGAGAGCTTGGGCGGCCGCCGCCGCCTCCTCGCGAGCGCCGCGCGCCCGGGTCCCG CTCGCATGCAAGTCACGTCCGCCCCCTCGGCGCGGCCGCCCCGAGACGCCGGCCCCGCTGAGTGATGAGA ACAGACGTCAAACTGCCTTATGAATATTGATGCGGAGGCTAGGCTGCTTTCGTAGAGAAGCAGAAGGAAG CAAGATGGCTGCCCTTTAGGATTTGTTAGAAAGGAGACCCGACTGCAACTGCTGGATTGCTGCAAGGCTG AGGGACGAGAACGAGGCTGGCAAACATTCAGCAGCACACCCTCTCAAGATTGTTTACTTGCCTTTGCTCC TGTTGAGTTACAACGCTTGGAAGCAGGAGATGGGCTCAGCAGCAGCCAATAGGACATGATCCAGGAAGAG CAGTAAGGGACTGAGCTGCTGAATTCAACTAGAGGGCAGCCTTGTGGATGGCCCCGAAGCAAGCCTGATG GAACAGGATAGAACCAACCATGTTGAGGGCAACAGACTAAGTCCATTCCTGATACCATCACCTCCCATTT GCCAGACAGAACCTCTGGCTACAAAGCTCCAGAATGGAAGCCCACTGCCTGAGAGAGCTCATCCAGAAGT AAATGGAGACACCAAGTGGCACTCTTTCAAAAGTTATTATGGAATACCCTGTATGAAGGGAAGCCAGAAT AGTCGTGTGAGTCCTGACTTTACACAAGAAAGTAGAGGGTATTCCAAGTGTTTGCAAAATGGAGGAATAA AACGCACAGTTAGTGAACCTTCTCTCTCTGGGCTCCTTCAGATCAAGAAATTGAAACAAGACCAAAAGGC

		TAATGGAGAAAGACGTAACTTCGGGGTAAGCCAAGAAAG AAATCCAGGTGAAAGCAGTCAACCAAATGTC
		TCCGATTTGAGTGATAAGAAAGAATCTGTGAGTTCTGTAG CCCAAGAAAATGCAGTTAAAGATTTCACCA
		GTTTTTCAACACATAACTGCAGTGGGCCTGAAAATCCAG AGCTTCAGATTCTGAATGAGCAGGAGGGGAA
		AAGTGCTAATTACCATGACAAGAACATTGTATTACTTAAA AACAAGGCAGTGCTAATGCCTAATGGTGCT
		ACAGTTTCTGCCTCTTCCGTGGAACACACACATGGTGAA CTCCTGGAAAAAACACTGTCTCAATATTATC
		CAGATTGTGTTTCCATTGCGGTGCAGAAAACCACATCTC ACATAAATGCCATTAACAGTCAGGCTACTAA
		TGAGTTGTCCTGTGAGATCACTCACCCATCGCATACCTC AGGGCAGATCAATTCCGCACAGACCTCTAAC
		TCTGAGCTGCCTCCAAAGCCAGCTGCAGTGGTGAGTGA GGCCTGTGATGCTGATGATGCTGATAATGCCA
		GTAAACTAGCTGCAATGCTAAATACCTGTTCCTTTCAGAA ACCAGAACAACTACAACAACAAAAATCAGT
		TTTTGAGATATGCCCATCTCCTGCAGAAAATAACATCCAG GGAACCACAAAGCTAGCGTCTGGTGAAGAA
		TTCTGTTCAGGTTCCAGCAGCAATTTGCAAGCTCCTGGT GGCAGCTCTGAACGGTATTTAAAACAAAATG
		AAATGAATGGTGCTTACTTCAAGCAAAGCTCAGTGTTCAC TAAGGATTCCTTTTCTGCCACTACCACACC
		ACCACCACCATCACAATTGCTTCTTTCTCCCCCTCCTCCT CTTCCACAGGTTCCTCAGCTTCCTTCAGAA
		GGAAAAAGCACTCTGAATGGTGGAGTTTTAGAAGAACAC CACCACTACCCCAACCAAAGTAACACAACAC
		TTTTAAGGGAAGTGAAAATAGAGGGTAAACCTGAGGCAC CACCTTCCCAGAGTCCTAATCCATCTACACA
		TGTATGCAGCCCTTCTCCGATGCTTTCTGAAAGGCCTCA GAATAATTGTGTGAACAGGAATGACATACAG
		ACTGCAGGGACAATGACTGTTCCATTGTGTTCTGAGAAA

		ACAAGACCAATGTCAGAACACCTCAAGCATA
		ACCCACCAATTTTTGGTAGCAGTGGAGAGCTACAGGACA ACTGCCAGCAGTTGATGAGAAACAAAGAGCA
		AGAGATTCTGAAGGGTCGAGACAAGGAGCAAACACGAG ATCTTGTGCCCCCAACACAGCACTATCTGAAA
		CCAGGATGGATTGAATTGAAGGCCCCTCGTTTTCACCAA GCGGAATCCCATCTAAAACGTAATGAGGCAT
		CACTGCCATCAATTCTTCAGTATCAACCCAATCTCTCCAA TCAAATGACCTCCAAACAATACACTGGAAA
		TTCCAACATGCCTGGGGGGCTCCCAAGGCAAGCTTACA CCCAGAAAACAACACAGCTGGAGCACAAGTCA
		CAAATGTACCAAGTTGAAATGAATCAAGGGCAGTCCCAA GGTACAGTGGACCAACATCTCCAGTTCCAAA
		AACCCTCACACCAGGTGCACTTCTCCAAAACAGACCATT TACCAAAAGCTCATGTGCAGTCACTGTGTGG
		CACTAGATTTCATTTTCAACAAAGAGCAGATTCCCAAACT GAAAAACTTATGTCCCCAGTGTTGAAACAG
		CACTTGAATCAACAGGCTTCAGAGACTGAGCCATTTTCA AACTCACACCTTTTGCAACATAAGCCTCATA
		AACAGGCAGCACAAACACAACCATCCCAGAGTTCACATC TCCCTCAAAACCAGCAACAGCAGCAAAAATT
		ACAAATAAAGAATAAAGAGGAAATACTCCAGACTTTTCCT CACCCCCAAAGCAACAATGATCAGCAAAGA
		GAAGGATCATTCTTTGGCCAGACTAAAGTGGAAGAATGT TTTCATGGTGAAAATCAGTATTCAAAATCAA
		GCGAGTTCGAGACTCATAATGTCCAAATGGGACTGGAGG AAGTACAGAATATAAATCGTAGAAATTCCCC
		TTATAGTCAGACCATGAAATCAAGTGCATGCAAAATACAG GTTTCTTGTTCAAACAATACACACCTAGTT
		TCAGAGAATAAAGAACAGACTACACATCCTGAACTTTTTG CAGGAAACAAGACCCAAAACTTGCATCACA
		TGCAATATTTTCCAAATAATGTGATCCCAAAGCAAGATCT TCTTCACAGGTGCTTTCAAGAACAGGAGCA

		GAAGTCACAACAAGCTTCAGTTCTACAGGGATATAAAAAT AGAAACCAAGATATGTCTGGTCAACAAGCT
		GCGCAACTTGCTCAGCAAAGGTACTTGATACATAACCAT GCAAATGTTTTTCCTGTGCCTGACCAGGGAG
		GAAGTCACACTCAGACCCCTCCCCAGAAGGACACTCAAA AGCATGCTGCTCTAAGGTGGCATCTCTTACA
		GAAGCAAGAACAGCAGCAAACACAGCAACCCCAAACTGA GTCTTGCCATAGTCAGATGCACAGGCCAATT
		AAGGTGGAACCTGGATGCAAGCCACATGCCTGTATGCAC ACAGCACCACCAGAAAACAAAACATGGAAAA
		AGGTAACTAAGCAAGAGAATCCACCTGCAAGCTGTGATA ATGTGCAGCAAAAGAGCATCATTGAGACCAT
		GGAGCAGCATCTGAAGCAGTTTCACGCCAAGTCGTTATT TGACCATAAGGCTCTTACTCTCAAATCACAG
		AAGCAAGTAAAAGTTGAAATGTCAGGGCCAGTCACAGTT TTGACTAGACAAACCACTGCTGCAGAACTTG
		ATAGCCACACCCCAGCTTTAGAGCAGCAAACAACTTCTT CAGAAAAGACACCAACCAAAAGAACAGCTGC
		TTCTGTTCTCAATAATTTTATAGAGTCACCTTCCAAATTAC TAGATACTCCTATAAAAAATTTATTGGAT
		ACACCTGTCAAGACTCAATATGATTTCCCATCTTGCAGAT GTGTAGAGCAAATTATTGAAAAAGATGAAG
		GTCCTTTTTATACCCATCTAGGAGCAGGTCCTAATGTGG CAGCTATTAGAGAAATCATGGAAGAAAGGTT
		TGGACAGAAGGGTAAAGCTATTAGGATTGAAAGAGTCAT CTATACTGGTAAAGAAGGCAAAAGTTCTCAG
		GGATGTCCTATTGCTAAGTGGGTGGTTCGCAGAAGCAGC AGTGAAGAGAAGCTACTGTGTTTGGTGCGGG
		AGCGAGCTGGCCACACCTGTGAGGCTGCAGTGATTGTG ATTCTCATCCTGGTGTGGGAAGGAATCCCGCT
		GTCTCTGGCTGACAAACTCTACTCGGAGCTTACCGAGAC GCTGAGGAAATACGGCACGCTCACCAATCGC
		CGGTGTGCCTTGAATGAAGAGAGAACTTGCGCCTGTCAG

		GGGCTGGATCCAGAAACCTGTGGTGCCTCCT
		TCTCTTTTGGTTGTTCATGGAGCATGTACTACAATGGATG TAAGTTTGCCAGAAGCAAGATCCCAAGGAA
		GTTTAAGCTGCTTGGGGATGACCCAAAAGAGGAAGAGAA ACTGGAGTCTCATTTGCAAAACCTGTCCACT
		CTTATGGCACCAACATATAAGAAACTTGCACCTGATGCAT ATAATAATCAGATTGAATATGAACACAGAG
		CACCAGAGTGCCGTCTGGGTCTGAAGGAAGGCCGTCCA TTCTCAGGGGTCACTGCATGTTTGGACTTCTG
		TGCTCATGCCCACAGAGACTTGCACAACATGCAGAATGG CAGCACATTGGTATGCACTCTCACTAGAGAA
		GACAATCGAGAATTTGGAGGAAAACCTGAGGATGAGCAG CTTCACGTTCTGCCTTTATACAAAGTCTCTG
		ACGTGGATGAGTTTGGGAGTGTGGAAGCTCAGGAGGAG AAAAAACGGAGTGGTGCCATTCAGGTACTGAG
		TTCTTTTCGGCGAAAAGTCAGGATGTTAGCAGAGCCAGT CAAGACTTGCCGACAAAGGAAACTAGAAGCC
		AAGAAAGCTGCAGCTGAAAAGCTTTCCTCCCTGGAGAAC AGCTCAAATAAAAATGAAAAGGAAAAGTCAG
		CCCCATCACGTACAAAACAAACTGAAAACGCAAGCCAGG CTAAACAGTTGGCAGAACTTTTGCGACTTTC
		AGGACCAGTCATGCAGCAGTCCCAGCAGCCCCAGCCTC TACAGAAGCAGCCACCACAGCCCCAGCAGCAG
		CAGAGACCCCAGCAGCAGCAGCCACATCACCCTCAGAC AGAGTCTGTCAACTCTTATTCTGCTTCTGGAT
		CCACCAATCCATACATGAGACGGCCCAATCCAGTTAGTC CTTATCCAAACTCTTCACACACTTCAGATAT
		CTATGGAAGCACCAGCCCTATGAACTTCTATTCCACCTC ATCTCAAGCTGCAGGTTCATATTTGAATTCT
		TCTAATCCCATGAACCCTTACCCTGGGCTTTTGAATCAGA ATACCCAATATCCATCATATCAATGCAATG
		GAAACCTATCAGTGGACAACTGCTCCCCATATCTGGGTT CCTATTCTCCCCAGTCTCAGCCGATGGATCT

		GTATAGGTATCCAAGCCAAGACCCTCTGTCTAAGCTCAG TCTACCACCCATCCATACACTTTACCAGCCA
		AGGTTTGGAAATAGCCAGAGTTTTACATCTAAATACTTAG GTTATGGAAACCAAAATATGCAGGGAGATG
		GTTTCAGCAGTTGTACCATTAGACCAAATGTACATCATGT AGGGAAATTGCCTCCTTATCCCACTCATGA
		GATGGATGGCCACTTCATGGGAGCCACCTCTAGATTACC ACCCAATCTGAGCAATCCAAACATGGACTAT
		AAAAATGGTGAACATCATTCACCTTCTCACATAATCCATA ACTACAGTGCAGCTCCGGGCATGTTCAACA
		GCTCTCTTCATGCCCTGCATCTCCAAAACAAGGAGAATG ACATGCTTTCCCACACAGCTAATGGGTTATC
		AAAGATGCTTCCAGCTCTTAACCATGATAGAACTGCTTGT GTCCAAGGAGGCTTACACAAATTAAGTGAT
		GCTAATGGTCAGGAAAAGCAGCCATTGGCACTAGTCCAG GGTGTGGCTTCTGGTGCAGAGGACAACGATG
		AGGTCTGGTCAGACAGCGAGCAGAGCTTTCTGGATCCT GACATTGGGGGAGTGGCCGTGGCTCCAACTCA
		TGGGTCAATTCTCATTGAGTGTGCAAAGCGTGAGCTGCA TGCCACAACCCCTTTAAAGAATCCCAATAGG
		AATCACCCCACCAGGATCTCCCTCGTCTTTTACCAGCAT AAGAGCATGAATGAGCCAAAACATGGCTTGG
		CTCTTTGGGAAGCCAAAATGGCTGAAAAAGCCCGTGAGA AAGAGGAAGAGTGTGAAAAGTATGGCCCAGA
		CTATGTGCCTCAGAAATCCCATGGCAAAAAAGTGAAACG GGAGCCTGCTGAGCCACATGAAACTTCAGAG
		CCCACTTACCTGCGTTTCATCAAGTCTCTTGCCGAAAGG ACCATGTCCGTGACCACAGACTCCACAGTAA
		CTACATCTCCATATGCCTTCACTCGGGTCACAGGGCCTT ACAACAGATATATATGATATCACCCCCTTTT
		GTTGGTTACCTCACTTGAAAAGACCACAACCAACCTGTC AGTAGTATAGTTCTCATGACGTGGGCAGTGG
		GGAAAGGTCACAGTATTCATGACAAATGTGGTGGGAAAA

		ACCTCAGCTCACCAGCAACAAAAGAGGTTAT CTTACCATAGCACTTAATTTTCACTGGCTCCCAAGTGGTC ACAGATGGCATCTAGGAAAAGACCAAAGCA TTCTATGCAAAAAGAAGGTGGGGAAGAAAGTGTTCCGCA ATTTACATTTTTAAACACTGGTTCTATTATT GGACGAGATGATATGTAAATGTGATCCCCCCCCCCCGCT TACAACTCTACACATCTGTGACCACTTTTAA TAATATCAAGTTTGCATAGTCATGGAACACAAATCAAACA AGTACTGTAGTATTACAGTGACAGGAATCT TAAAATACCATCTGGTGCTGAATATATGATGTACTGAAAT ACTGGAATTATGGCTTTTTGAAATGCAGTT TTTACTGTAATCTTAACTTTTATTTATCAAAATAGCTACAG GAAACATGAATAGCAGGAAAACACTGAAT TTGTTTGGATGTTCTAAGAAATGGTGCTAAGAAAATGGTG TCTTTAATAGCTAAAAATTTAATGCCTTTA TATCATCAAGATGCTATCAGTGTACTCCAGTGCCCTTGAA TAATAGGGGTACCTTTTCATTCAAGTTTTT ATCATAATTACCTATTCTTACACAAGCTTAGTTTTTAAAAT GTGGACATTTTAAAGGCCTCTGGATTTTG CTCATCCAGTGAAGTCCTTGTAGGACAATAAACGTATATA TGTACATATATACACAAACATGTATATGTG CACACACATGTATATGTATAAATATTTTAAATGGTGTTTTA GAAGCACTTTGTCTACCTAAGCTTTGACA ACTTGAACAATGCTAAGGTACTGAGATGTTTAAAAAACAA GTTTACTTTCATTTTAGAATGCAAAGTTGA TTTTTTTAAGGAAACAAAGAAAGCTTTTAAAATATTTTTGC TTTTAGCCATGCATCTGCTGATGAGCAAT TGTGTCCATTTTTAACACAGCCAGTTAAATCCACCATGGG GCTTACTGGATTCAAGGGAATACGTTAGTC CACAAAACATGTTTTCTGGTGCTCATCTCACATGCTATAC TGTAAAACAGTTTTATACAAAATTGTATGA CAAGTTCATTGCTCAAAAATGTACAGTTTTAAGAATTTTCT ATTAACTGCAGGTAATAATTAGCTGCATG

		CTGCAGACTCAACAAAGCTAGTTCACTGAAGCCTATGCT ATTTTATGGATCATAGGCTCTTCAGAGAACT
		GAATGGCAGTCTGCCTTTGTGTTGATAATTATGTACATTG TGACGTTGTCATTTCTTAGCTTAAGTGTCC
		TCTTTAACAAGAGGATTGAGCAGACTGATGCCTGCATAA GATGAATAAACAGGGTTAGTTCCATGTGAAT
		CTGTCAGTTAAAAAGAAACAAAAACAGGCAGCTGGTTTG CTGTGGTGGTTTTAAATCATTAATTTGTATA
		AAGAAGTGAAAGAGTTGTATAGTAAATTAAATTGTAAACA AAACTTTTTTAATGCAATGCTTTAGTATTT
		TAGTACTGTAAAAAAATTAAATATATACATATATATATATA TATATATATATATATATATGAGTTTGAAG
		CAGAATTCACATCATGATGGTGCTACTCAGCCTGCTACA AATATATCATAATGTGAGCTAAGAATTCATT
		AAATGTTTGAGTGATGTTCCTACTTGTCATATACCTCAAC ACTAGTTTGGCAATAGGATATTGAACTGAG
		AGTGAAAGCATTGTGTACCATCATTTTTTTCCAAGTCCTT TTTTTTATTGTTAAAAAAAAAAGCATACCT
		TTTTTCAATACTTGATTTCTTAGCAAGTATAACTTGAACTT CAACCTTTTTGTTCTAAAAATTCAGGGAT
		ATTTCAGCTCATGCTCTCCCTATGCCAACATGTCACCTGT GTTTATGTAAAATTGTTGTAGGTTAATAAA
		TATATTCTTTGTCAGGGATTTAACCCTTTTATTTTGAATCC CTTCTATTTTACTTGTACATGTGCTGATG
		TAACTAAAACTAATTTTGTAAATCTGTTGGCTCTTTTTATT GTAAAGAAAAGCATTTTAAAAGTTTGAGG
		AATCTTTTGACTGTTTCAAGCAGGAAAAAAAAATTACATG AAAATAGAATGCACTGAGTTGATAAAGGGA
		AAAATTGTAAGGCAGGAGTTTGGCAAGTGGCTGTTGGCC AGAGACTTACTTGTAACTCTCTAAATGAAGT
		TTTTTTGATCCTGTAATCACTGAAGGTACATACTCCATGT GGACTTCCCTTAAACAGGCAAACACCTACA
		GGTATGGTGTGCAACAGATTGTACAATTACATTTTGGCCT

		AAATACATTTTTGCTTACTAGTATTTAAAA TAAATTCTTAATCAGAGGAGGCCTTTGGGTTTTATTGGTC AAATCTTTGTAAGCTGGCTTTTGTCTTTTT AAAAAATTTCTTGAATTTGTGGTTGTGTCCAATTTGCAAA CATTTCCAAAAATGTTTGCTTTGCTTACAA ACCACATGATTTTAATGTTTTTTGTATACCATAATATCTAG CCCCAAACATTTGATTACTACATGTGCAT TGGTGATTTTGATCATCCATTCTTAATATTTGATTTCTGTG TCACCTACTGTCATTTGTTAAACTGCTGG CCAACAAGAACAGGAAGTATAGTTTGGGGGGTTGGGGA GAGTTTACATAAGGAAGAGAAGAAATTGAGTG GCATATTGTAAATATCAGATCTATAATTGTAAATATAAAAC CTGCCTCAGTTAGAATGAATGGAAAGCAG ATCTACAATTTGCTAATATAGGAATATCAGGTTGACTATA TAGCCATACTTGAAAATGCTTCTGAGTGGT GTCAACTTTACTTGAATGAATTTTTCATCTTGATTGACGC ACAGTGATGTACAGTTCACTTCTGAAGCTA GTGGTTAACTTGTGTAGGAAACTTTTGCAGTTTGACACTA AGATAACTTCTGTGTGCATTTTTCTATGCT TTTTTAAAAACTAGTTTCATTTCATTTTCATGAGATGTTTG GTTTATAAGATCTGAGGATGGTTATAAAT ACTGTAAGTATTGTAATGTTATGAATGCAGGTTATTTGAA AGCTGTTTATTATTATATCATTCCTGATAA TGCTATGTGAGTGTTTTTAATAAAATTTATATTTATTTAAT GCACTCTAAAAAAAAAAAAAAAAAA
PREVISTA: Metilcitosina dioxigenase tet 2 (TET2) de *Homo sapiens*, variante de transcrito X1, mRNA	XM_005263082.1	AAGCAGAAGGAAGCAAGATGGCTGCCCTTTAGGATTTGT TAGAAAGGAGACCCGACTGCAACTGCTGGAT TGCTGCAAGGCTGAGGGACGAGAACGAGAATTCAACTA GAGGGCAGCCTTGTGGATGGCCCCGAAGCAAG CCTGATGGAACAGGATAGAACCAACCATGTTGAGGGCAA CAGACTAAGTCCATTCCTGATACCATCACCT CCCATTTGCCAGACAGAACCTCTGGCTACAAAGCTCCAG AATGGAAGCCCACTGCCTGAGAGAGCTCATC

[SEQ ID Nº: 1359]		CAGAAGTAAATGGAGACACCAAGTGGCACTCTTTCAAAA GTTATTATGGAATACCCTGTATGAAGGGAAG CCAGAATAGTCGTGTGAGTCCTGACTTTACACAAGAAAG TAGAGGGTATTCCAAGTGTTTGCAAAATGGA GGAATAAAACGCACAGTTAGTGAACCTTCTCTCTCTGGG CTCCTTCAGATCAAGAAATTGAAACAAGACC AAAAGGCTAATGGAGAAAGACGTAACTTCGGGGTAAGCC AAGAAAGAAATCCAGGTGAAAGCAGTCAACC AAATGTCTCCGATTTGAGTGATAAGAAAGAATCTGTGAGT TCTGTAGCCCAAGAAAATGCAGTTAAAGAT TTCACCAGTTTTTCAACACATAACTGCAGTGGGCCTGAAA ATCCAGAGCTTCAGATTCTGAATGAGCAGG AGGGGAAAAGTGCTAATTACCATGACAAGAACATTGTATT ACTTAAAAACAAGGCAGTGCTAATGCCTAA TGGTGCTACAGTTTCTGCCTCTTCCGTGGAACACACACA TGGTGAACTCCTGGAAAAAACACTGTCTCAA TATTATCCAGATTGTGTTTCCATTGCGGTGCAGAAAACCA CATCTCACATAAATGCCATTAACAGTCAGG CTACTAATGAGTTGTCCTGTGAGATCACTCACCCATCGC ATACCTCAGGGCAGATCAATTCCGCACAGAC CTCTAACTCTGAGCTGCCTCCAAAGCCAGCTGCAGTGGT GAGTGAGGCCTGTGATGCTGATGATGCTGAT AATGCCAGTAAACTAGCTGCAATGCTAAATACCTGTTCCT TTCAGAAACCAGAACAACTACAACAACAAA AATCAGTTTTTGAGATATGCCCATCTCCTGCAGAAAATAA CATCCAGGGAACCACAAAGCTAGCGTCTGG TGAAGAATTCTGTTCAGGTTCCAGCAGCAATTTGCAAGC TCCTGGTGGCAGCTCTGAACGGTATTTAAAA CAAAATGAAATGAATGGTGCTTACTTCAAGCAAAGCTCA GTGTTCACTAAGGATTCCTTTTCTGCCACTA CCACACCACCACCACCATCACAATTGCTTCTTTCTCCCC CTCCTCCTCTTCCACAGGTTCCTCAGCTTCC TTCAGAAGGAAAAAGCACTCTGAATGGTGGAGTTTTAGA

		AGAACACCACCACTACCCCAACCAAAGTAAC
		ACAACACTTTTAAGGGAAGTGAAAATAGAGGGTAAACCT GAGGCACCACCTTCCCAGAGTCCTAATCCAT
		CTACACATGTATGCAGCCCTTCTCCGATGCTTTCTGAAA GGCCTCAGAATAATTGTGTGAACAGGAATGA
		CATACAGACTGCAGGGACAATGACTGTTCCATTGTGTTC TGAGAAAACAAGACCAATGTCAGAACACCTC
		AAGCATAACCCACCAATTTTTGGTAGCAGTGGAGAGCTA CAGGACAACTGCCAGCAGTTGATGAGAAACA
		AAGAGCAAGAGATTCTGAAGGGTCGAGACAAGGAGCAA ACACGAGATCTTGTGCCCCCAACACAGCACTA
		TCTGAAACCAGGATGGATTGAATTGAAGGCCCCTCGTTT TCACCAAGCGGAATCCCATCTAAAACGTAAT
		GAGGCATCACTGCCATCAATTCTTCAGTATCAACCCAATC TCTCCAATCAAATGACCTCCAAACAATACA
		CTGGAAATTCCAACATGCCTGGGGGGCTCCCAAGGCAA GCTTACACCCAGAAAACAACACAGCTGGAGCA
		CAAGTCACAAATGTACCAAGTTGAAATGAATCAAGGGCA GTCCCAAGGTACAGTGGACCAACATCTCCAG
		TTCCAAAAACCCTCACACCAGGTGCACTTCTCCAAAACA GACCATTTACCAAAAGCTCATGTGCAGTCAC
		TGTGTGGCACTAGATTTCATTTTCAACAAAGAGCAGATTC CCAAACTGAAAAACTTATGTCCCCAGTGTT
		GAAACAGCACTTGAATCAACAGGCTTCAGAGACTGAGCC ATTTTCAAACTCACACCTTTTGCAACATAAG
		CCTCATAAACAGGCAGCACAAACACAACCATCCCAGAGT TCACATCTCCCTCAAAACCAGCAACAGCAGC
		AAAAATTACAAATAAAGAATAAAGAGGAAATACTCCAGAC TTTTCCTCACCCCCAAAGCAACAATGATCA
		GCAAAGAGAAGGATCATTCTTTGGCCAGACTAAAGTGGA AGAATGTTTTCATGGTGAAAATCAGTATTCA
		AAATCAAGCGAGTTCGAGACTCATAATGTCCAAATGGGA CTGGAGGAAGTACAGAATATAAATCGTAGAA

		ATTCCCCTTATAGTCAGACCATGAAATCAAGTGCATGCAA AATACAGGTTTCTTGTTCAAACAATACACA
		CCTAGTTTCAGAGAATAAAGAACAGACTACACATCCTGAA CTTTTTGCAGGAAACAAGACCCAAAACTTG
		CATCACATGCAATATTTTCCAAATAATGTGATCCCAAAGC AAGATCTTCTTCACAGGTGCTTTCAAGAAC
		AGGAGCAGAAGTCACAACAAGCTTCAGTTCTACAGGGAT ATAAAAATAGAAACCAAGATATGTCTGGTCA
		ACAAGCTGCGCAACTTGCTCAGCAAAGGTACTTGATACA TAACCATGCAAATGTTTTTCCTGTGCCTGAC
		CAGGGAGGAAGTCACACTCAGACCCCTCCCCAGAAGGA CACTCAAAAGCATGCTGCTCTAAGGTGGCATC
		TCTTACAGAAGCAAGAACAGCAGCAAACACAGCAACCCC AAACTGAGTCTTGCCATAGTCAGATGCACAG
		GCCAATTAAGGTGGAACCTGGATGCAAGCCACATGCCTG TATGCACACAGCACCACCAGAAAACAAAACA
		TGGAAAAAGGTAACTAAGCAAGAGAATCCACCTGCAAGC TGTGATAATGTGCAGCAAAAGAGCATCATTG
		AGACCATGGAGCAGCATCTGAAGCAGTTTCACGCCAAGT CGTTATTTGACCATAAGGCTCTTACTCTCAA
		ATCACAGAAGCAAGTAAAAGTTGAAATGTCAGGGCCAGT CACAGTTTTGACTAGACAAACCACTGCTGCA
		GAACTTGATAGCCACACCCCAGCTTTAGAGCAGCAAACA ACTTCTTCAGAAAAGACACCAACCAAAAGAA
		CAGCTGCTTCTGTTCTCAATAATTTTATAGAGTCACCTTC CAAATTACTAGATACTCCTATAAAAAATTT
		ATTGGATACACCTGTCAAGACTCAATATGATTTCCCATCT TGCAGATGTGTAGAGCAAATTATTGAAAAA
		GATGAAGGTCCTTTTTATACCCATCTAGGAGCAGGTCCT AATGTGGCAGCTATTAGAGAAATCATGGAAG
		AAAGGTTTGGACAGAAGGGTAAAGCTATTAGGATTGAAA GAGTCATCTATACTGGTAAAGAAGGCAAAAG
		TTCTCAGGGATGTCCTATTGCTAAGTGGGTGGTTCGCAG

		AAGCAGCAGTGAAGAGAAGCTACTGTGTTTG
		GTGCGGGAGCGAGCTGGCCACACCTGTGAGGCTGCAGT GATTGTGATTCTCATCCTGGTGTGGGAAGGAA
		TCCCGCTGTCTCTGGCTGACAAACTCTACTCGGAGCTTA CCGAGACGCTGAGGAAATACGGCACGCTCAC
		CAATCGCCGGTGTGCCTTGAATGAAGAGAGAACTTGCGC CTGTCAGGGGCTGGATCCAGAAACCTGTGGT
		GCCTCCTTCTCTTTTGGTTGTTCATGGAGCATGTACTACA ATGGATGTAAGTTTGCCAGAAGCAAGATCC
		CAAGGAAGTTTAAGCTGCTTGGGGATGACCCAAAAGAGG AAGAGAAACTGGAGTCTCATTTGCAAAACCT
		GTCCACTCTTATGGCACCAACATATAAGAAACTTGCACCT GATGCATATAATAATCAGATTGAATATGAA
		CACAGAGCACCAGAGTGCCGTCTGGGTCTGAAGGAAGG CCGTCCATTCTCAGGGGTCACTGCATGTTTGG
		ACTTCTGTGCTCATGCCCACAGAGACTTGCACAACATGC AGAATGGCAGCACATTGGTATGCACTCTCAC
		TAGAGAAGACAATCGAGAATTTGGAGGAAAACCTGAGGA TGAGCAGCTTCACGTTCTGCCTTTATACAAA
		GTCTCTGACGTGGATGAGTTTGGGAGTGTGGAAGCTCA GGAGGAGAAAAAACGGAGTGGTGCCATTCAGG
		TACTGAGTTCTTTTCGGCGAAAAGTCAGGATGTTAGCAG AGCCAGTCAAGACTTGCCGACAAAGGAAACT
		AGAAGCCAAGAAAGCTGCAGCTGAAAAGCTTTCCTCCCT GGAGAACAGCTCAAATAAAAATGAAAAGGAA
		AAGTCAGCCCCATCACGTACAAAACAAACTGAAAACGCA AGCCAGGCTAAACAGTTGGCAGAACTTTTGC
		GACTTTCAGGACCAGTCATGCAGCAGTCCCAGCAGCCC CAGCCTCTACAGAAGCAGCCACCACAGCCCCA
		GCAGCAGCAGAGACCCCAGCAGCAGCAGCCACATCACC CTCAGACAGAGTCTGTCAACTCTTATTCTGCT
		TCTGGATCCACCAATCCATACATGAGACGGCCCAATCCA GTTAGTCCTTATCCAAACTCTTCACACACTT

		CAGATATCTATGGAAGCACCAGCCCTATGAACTTCTATTC CACCTCATCTCAAGCTGCAGGTTCATATTT GAATTCTTCTAATCCCATGAACCCTTACCCTGGGCTTTTG AATCAGAATACCCAATATCCATCATATCAA TGCAATGGAAACCTATCAGTGGACAACTGCTCCCCATAT CTGGGTTCCTATTCTCCCCAGTCTCAGCCGA TGGATCTGTATAGGTATCCAAGCCAAGACCCTCTGTCTA AGCTCAGTCTACCACCCATCCATACACTTTA CCAGCCAAGGTTTGGAAATAGCCAGAGTTTTACATCTAA ATACTTAGGTTATGGAAACCAAAATATGCAG GGAGATGGTTTCAGCAGTTGTACCATTAGACCAAATGTA CATCATGTAGGGAAATTGCCTCCTTATCCCA CTCATGAGATGGATGGCCACTTCATGGGAGCCACCTCTA GATTACCACCCAATCTGAGCAATCCAAACAT GGACTATAAAAATGGTGAACATCATTCACCTTCTCACATA ATCCATAACTACAGTGCAGCTCCGGGCATG TTCAACAGCTCTCTTCATGCCCTGCATCTCCAAAACAAG GAGAATGACATGCTTTCCCACACAGCTAATG GGTTATCAAAGATGCTTCCAGCTCTTAACCATGATAGAAC TGCTTGTGTCCAAGGAGGCTTACACAAATT AAGTGATGCTAATGGTCAGGAAAAGCAGCCATTGGCACT AGTCCAGGGTGTGGCTTCTGGTGCAGAGGAC AACGATGAGGTCTGGTCAGACAGCGAGCAGAGCTTTCT GGATCCTGACATTGGGGGAGTGGCCGTGGCTC CAACTCATGGGTCAATTCTCATTGAGTGTGCAAAGCGTG AGCTGCATGCCACAACCCCTTTAAAGAATCC CAATAGGAATCACCCCACCAGGATCTCCCTCGTCTTTTA CCAGCATAAGAGCATGAATGAGCCAAAACAT GGCTTGGCTCTTTGGGAAGCCAAAATGGCTGAAAAAGCC CGTGAGAAAGAGGAAGAGTGTGAAAAGTATG GCCCAGACTATGTGCCTCAGAAATCCCATGGCAAAAAAG TGAAACGGGAGCCTGCTGAGCCACATGAAAC TTCAGAGCCCACTTACCTGCGTTTCATCAAGTCTCTTGCC

		GAAAGGACCATGTCCGTGACCACAGACTCC ACAGTAACTACATCTCCATATGCCTTCACTCGGGTCACA GGGCCTTACAACAGATATATATGATATCACC CCCTTTTGTTGGTTACCTCACTTGAAAAGACCACAACCAA CCTGTCAGTAGTATAGTTCTCATGACGTGG GCAGTGGGGAAAGGTCACAGTATTCATGACAAATGTGGT GGGAAAAACCTCAGCTCACCAGCAACAAAAG AGGTTATCTTACCATAGCACTTAATTTTCACTGGCTCCCA AGTGGTCACAGATGGCATCTAGGAAAAGAC CAAAGCATTCTATGCAAAAAGAAGGTGGGGAAGAAAGTG TTCCGCAATTTACATTTTTAAACACTGGTTC TATTATTGGACGAGATGATATGTAAATGTGATCCCCCCCC CCCGCTTACAACTCTACACATCTGTGACCA CTTTTAATAATATCAAGTTTGCATAGTCATGGAACACAAA TCAAACAAGTACTGTAGTATTACAGTGACA GGAATCTTAAAATACCATCTGGTGCTGAATATATGATGTA CTGAAATACTGGAATTATGGCTTTTTGAAA TGCAGTTTTTACTGTAATCTTAACTTTTATTTATCAAAATA GCTACAGGAAACATGAATAGCAGGAAAAC ACTGAATTTGTTTGGATGTTCTAAGAAATGGTGCTAAGAA AATGGTGTCTTTAATAGCTAAAAATTTAAT GCCTTTATATCATCAAGATGCTATCAGTGTACTCCAGTGC CCTTGAATAATAGGGGTACCTTTTCATTCA AGTTTTTATCATAATTACCTATTCTTACACAAGCTTAGTTT TTAAAATGTGGACATTTTAAAGGCCTCTG GATTTTGCTCATCCAGTGAAGTCCTTGTAGGACAATAAAC GTATATATGTACATATATACACAAACATGT ATATGTGCACACACATGTATATGTATAAATATTTTAAATGG TGTTTTAGAAGCACTTTGTCTACCTAAGC TTTGACAACTTGAACAATGCTAAGGTACTGAGATGTTTAA AAAACAAGTTTACTTTCATTTTAGAATGCA AAGTTGATTTTTTTAAGGAAACAAAGAAAGCTTTTAAAATA TTTTTGCTTTTAGCCATGCATCTGCTGAT

		GAGCAATTGTGTCCATTTTTAACACAGCCAGTTAAATCCA CCATGGGGCTTACTGGATTCAAGGGAATAC
		GTTAGTCCACAAAACATGTTTTCTGGTGCTCATCTCACAT GCTATACTGTAAAACAGTTTTATACAAAAT
		TGTATGACAAGTTCATTGCTCAAAAATGTACAGTTTTAAG AATTTTCTATTAACTGCAGGTAATAATTAG
		CTGCATGCTGCAGACTCAACAAAGCTAGTTCACTGAAGC CTATGCTATTTTATGGATCATAGGCTCTTCA
		GAGAACTGAATGGCAGTCTGCCTTTGTGTTGATAATTATG TACATTGTGACGTTGTCATTTCTTAGCTTA
		AGTGTCCTCTTTAACAAGAGGATTGAGCAGACTGATGCC TGCATAAGATGAATAAACAGGGTTAGTTCCA
		TGTGAATCTGTCAGTTAAAAAGAAACAAAAACAGGCAGC TGGTTTGCTGTGGTGGTTTTAAATCATTAAT
		TTGTATAAAGAAGTGAAAGAGTTGTATAGTAAATTAAATT GTAAACAAAACTTTTTTAATGCAATGCTTT
		AGTATTTTAGTACTGTAAAAAAATTAAATATATACATATAT ATATATATATATATATATATATATATGAG
		TTTGAAGCAGAATTCACATCATGATGGTGCTACTCAGCCT GCTACAAATATATCATAATGTGAGCTAAGA
		ATTCATTAAATGTTTGAGTGATGTTCCTACTTGTCATATAC CTCAACACTAGTTTGGCAATAGGATATTG
		AACTGAGAGTGAAAGCATTGTGTACCATCATTTTTTTCCA AGTCCTTTTTTTTATTGTTAAAAAAAAAAG
		CATACCTTTTTTCAATACTTGATTTCTTAGCAAGTATAACT TGAACTTCAACCTTTTTGTTCTAAAAATT
		CAGGGATATTTCAGCTCATGCTCTCCCTATGCCAACATG TCACCTGTGTTTATGTAAAATTGTTGTAGGT
		TAATAAATATATTCTTTGTCAGGGATTTAACCCTTTTATTT TGAATCCCTTCTATTTTACTTGTACATGT
		GCTGATGTAACTAAAACTAATTTTGTAAATCTGTTGGCTC TTTTTATTGTAAAGAAAAGCATTTTAAAAG
		TTTGAGGAATCTTTTGACTGTTTCAAGCAGGAAAAAAAAA

		TTACATGAAAATAGAATGCACTGAGTTGAT AAAGGGAAAAATTGTAAGGCAGGAGTTTGGCAAGTGGCT GTTGGCCAGAGACTTACTTGTAACTCTCTAA ATGAAGTTTTTTTGATCCTGTAATCACTGAAGGTACATAC TCCATGTGGACTTCCCTTAAACAGGCAAAC ACCTACAGGTATGGTGTGCAACAGATTGTACAATTACATT TTGGCCTAAATACATTTTTGCTTACTAGTA TTTAAAATAAATTCTTAATCAGAGGAGGCCTTTGGGTTTT ATTGGTCAAATCTTTGTAAGCTGGCTTTTG TCTTTTTAAAAAATTTCTTGAATTTGTGGTTGTGTCCAATT TGCAAACATTTCCAAAAATGTTTGCTTTG CTTACAAACCACATGATTTTAATGTTTTTTGTATACCATAA TATCTAGCCCCAAACATTTGATTACTACA TGTGCATTGGTGATTTTGATCATCCATTCTTAATATTTGAT TTCTGTGTCACCTACTGTCATTTGTTAAA CTGCTGGCCAACAAGAACAGGAAGTATAGTTTGGGGGG TTGGGGAGAGTTTACATAAGGAAGAGAAGAAA TTGAGTGGCATATTGTAAATATCAGATCTATAATTGTAAAT ATAAAACCTGCCTCAGTTAGAATGAATGG AAAGCAGATCTACAATTTGCTAATATAGGAATATCAGGTT GACTATATAGCCATACTTGAAAATGCTTCT GAGTGGTGTCAACTTTACTTGAATGAATTTTTCATCTTGA TTGACGCACAGTGATGTACAGTTCACTTCT GAAGCTAGTGGTTAACTTGTGTAGGAAACTTTTGCAGTTT GACACTAAGATAACTTCTGTGTGCATTTTT CTATGCTTTTTTAAAAACTAGTTTCATTTCATTTTCATGAG ATGTTTGGTTTATAAGATCTGAGGATGGT TATAAATACTGTAAGTATTGTAATGTTATGAATGCAGGTT ATTTGAAAGCTGTTTATTATTATATCATTC CTGATAATGCTATGTGAGTGTTTTTAATAAAATTTATATTT ATTTAATGCACTCTAA
PREVISTA: Metilcitosina dioxigenase tet	XM_0067142 42.2	GTAGAGAAGCAGAAGGAAGCAAGATGGCTGCCCTTTAG GATTTGTTAGAAAGGAGACCCGACTGCAACTG

2 (TET2) de *Homo sapiens*, variante de transcrito X2, mRNA [SEQ ID Nº: 1360]		CTGGATTGCTGCAAGGCTGAGGGACGAGAACGAGGCTG GCAAACATTCAGCAGCACACCCTCTCAAGATT GTTTACTTGCCTTTGCTCCTGTTGAGTTACAACGCTTGGA AGCAGGAGATGGGCTCAGCAGCAGCCAATA GGACATGATCCAGGAAGAGCAGTAAGGGACTGAGCTGC TGAATTCAACTAGAGGGCAGCCTTGTGGATGG CCCCGAAGCAAGCCTGATGGAACAGGATAGAACCAACC ATGTTGAGGGCAACAGACTAAGTCCATTCCTG ATACCATCACCTCCCATTTGCCAGACAGAACCTCTGGCT ACAAAGCTCCAGAATGGAAGCCCACTGCCTG AGAGAGCTCATCCAGAAGTAAATGGAGACACCAAGTGGC ACTCTTTCAAAAGTTATTATGGAATACCCTG TATGAAGGGAAGCCAGAATAGTCGTGTGAGTCCTGACTT TACACAAGAAAGTAGAGGGTATTCCAAGTGT TTGCAAAATGGAGGAATAAAACGCACAGTTAGTGAACCT TCTCTCTCTGGGCTCCTTCAGATCAAGAAAT TGAAACAAGACCAAAAGGCTAATGGAGAAAGACGTAACT TCGGGGTAAGCCAAGAAAGAAATCCAGGTGA AAGCAGTCAACCAAATGTCTCCGATTTGAGTGATAAGAA AGAATCTGTGAGTTCTGTAGCCCAAGAAAAT GCAGTTAAAGATTTCACCAGTTTTTCAACACATAACTGCA GTGGGCCTGAAAATCCAGAGCTTCAGATTC TGAATGAGCAGGAGGGGAAAAGTGCTAATTACCATGACA AGAACATTGTATTACTTAAAAACAAGGCAGT GCTAATGCCTAATGGTGCTACAGTTTCTGCCTCTTCCGT GGAACACACACATGGTGAACTCCTGGAAAAA ACACTGTCTCAATATTATCCAGATTGTGTTTCCATTGCGG TGCAGAAAACCACATCTCACATAAATGCCA TTAACAGTCAGGCTACTAATGAGTTGTCCTGTGAGATCA CTCACCCATCGCATACCTCAGGGCAGATCAA TTCCGCACAGACCTCTAACTCTGAGCTGCCTCCAAAGCC AGCTGCAGTGGTGAGTGAGGCCTGTGATGCT GATGATGCTGATAATGCCAGTAAACTAGCTGCAATGCTA

		AATACCTGTTCCTTTCAGAAACCAGAACAAC
		TACAACAACAAAAATCAGTTTTTGAGATATGCCCATCTCC TGCAGAAAATAACATCCAGGGAACCACAAA
		GCTAGCGTCTGGTGAAGAATTCTGTTCAGGTTCCAGCAG CAATTTGCAAGCTCCTGGTGGCAGCTCTGAA
		CGGTATTTAAAACAAAATGAAATGAATGGTGCTTACTTCA AGCAAAGCTCAGTGTTCACTAAGGATTCCT
		TTTCTGCCACTACCACACCACCACCACCATCACAATTGCT TCTTTCTCCCCCTCCTCCTCTTCCACAGGT
		TCCTCAGCTTCCTTCAGAAGGAAAAAGCACTCTGAATGG TGGAGTTTTAGAAGAACACCACCACTACCCC
		AACCAAAGTAACACAACACTTTTAAGGGAAGTGAAAATAG AGGGTAAACCTGAGGCACCACCTTCCCAGA
		GTCCTAATCCATCTACACATGTATGCAGCCCTTCTCCGAT GCTTTCTGAAAGGCCTCAGAATAATTGTGT
		GAACAGGAATGACATACAGACTGCAGGGACAATGACTGT TCCATTGTGTTCTGAGAAAACAAGACCAATG
		TCAGAACACCTCAAGCATAACCCACCAATTTTTGGTAGCA GTGGAGAGCTACAGGACAACTGCCAGCAGT
		TGATGAGAAACAAAGAGCAAGAGATTCTGAAGGGTCGAG ACAAGGAGCAAACACGAGATCTTGTGCCCCC
		AACACAGCACTATCTGAAACCAGGATGGATTGAATTGAA GGCCCCTCGTTTTCACCAAGCGGAATCCCAT
		CTAAAACGTAATGAGGCATCACTGCCATCAATTCTTCAGT ATCAACCCAATCTCTCCAATCAAATGACCT
		CCAAACAATACACTGGAAATTCCAACATGCCTGGGGGGC TCCCAAGGCAAGCTTACACCCAGAAAACAAC
		ACAGCTGGAGCACAAGTCACAAATGTACCAAGTTGAAAT GAATCAAGGGCAGTCCCAAGGTACAGTGGAC
		CAACATCTCCAGTTCCAAAAACCCTCACACCAGGTGCAC TTCTCCAAAACAGACCATTTACCAAAAGCTC
		ATGTGCAGTCACTGTGTGGCACTAGATTTCATTTTCAACA AAGAGCAGATTCCCAAACTGAAAAACTTAT

		GTCCCCAGTGTTGAAACAGCACTTGAATCAACAGGCTTC AGAGACTGAGCCATTTTCAAACTCACACCTT
		TTGCAACATAAGCCTCATAAACAGGCAGCACAAACACAA CCATCCCAGAGTTCACATCTCCCTCAAAACC
		AGCAACAGCAGCAAAAATTACAAATAAAGAATAAAGAGG AAATACTCCAGACTTTTCCTCACCCCCAAAG
		CAACAATGATCAGCAAAGAGAAGGATCATTCTTTGGCCA GACTAAAGTGGAAGAATGTTTTCATGGTGAA
		AATCAGTATTCAAAATCAAGCGAGTTCGAGACTCATAATG TCCAAATGGGACTGGAGGAAGTACAGAATA
		TAAATCGTAGAAATTCCCCTTATAGTCAGACCATGAAATC AAGTGCATGCAAAATACAGGTTTCTTGTTC
		AAACAATACACACCTAGTTTCAGAGAATAAAGAACAGACT ACACATCCTGAACTTTTTGCAGGAAACAAG
		ACCCAAAACTTGCATCACATGCAATATTTTCCAAATAATG TGATCCCAAAGCAAGATCTTCTTCACAGGT
		GCTTTCAAGAACAGGAGCAGAAGTCACAACAAGCTTCAG TTCTACAGGGATATAAAAATAGAAACCAAGA
		TATGTCTGGTCAACAAGCTGCGCAACTTGCTCAGCAAAG GTACTTGATACATAACCATGCAAATGTTTTT
		CCTGTGCCTGACCAGGGAGGAAGTCACACTCAGACCCC TCCCCAGAAGGACACTCAAAAGCATGCTGCTC
		TAAGGTGGCATCTCTTACAGAAGCAAGAACAGCAGCAAA CACAGCAACCCCAAACTGAGTCTTGCCATAG
		TCAGATGCACAGGCCAATTAAGGTGGAACCTGGATGCAA GCCACATGCCTGTATGCACACAGCACCACCA
		GAAAACAAAACATGGAAAAAGGTAACTAAGCAAGAGAAT CCACCTGCAAGCTGTGATAATGTGCAGCAAA
		AGAGCATCATTGAGACCATGGAGCAGCATCTGAAGCAGT TTCACGCCAAGTCGTTATTTGACCATAAGGC
		TCTTACTCTCAAATCACAGAAGCAAGTAAAAGTTGAAATG TCAGGGCCAGTCACAGTTTTGACTAGACAA
		ACCACTGCTGCAGAACTTGATAGCCACACCCCAGCTTTA

		GAGCAGCAAACAACTTCTTCAGAAAAGACAC
		CAACCAAAAGAACAGCTGCTTCTGTTCTCAATAATTTTAT AGAGTCACCTTCCAAATTACTAGATACTCC
		TATAAAAAATTTATTGGATACACCTGTCAAGACTCAATAT GATTTCCCATCTTGCAGATGTGTAGGTTTG
		GACAGAAGGGTAAAGCTATTAGGATTGAAAGAGTCATCT ATACTGGTAAAGAAGGCAAAAGTTCTCAGGG
		ATGTCCTATTGCTAAGTGGGAGAACTTGCGCCTGTCAGG GGCTGGATCCAGAAACCTGTGGTGCCTCCTT
		CTCTTTTGGTTGTTCATGGAGCATGTACTACAATGGATGT AAGTTTGCCAGAAGCAAGATCCCAAGGAAG
		TTTAAGCTGCTTGGGGATGACCCAAAAGAGGAAGAGAAA CTGGAGTCTCATTTGCAAAACCTGTCCACTC
		TTATGGCACCAACATATAAGAAACTTGCACCTGATGCATA TAATAATCAGATTGAATATGAACACAGAGC
		ACCAGAGTGCCGTCTGGGTCTGAAGGAAGGCCGTCCAT TCTCAGGGGTCACTGCATGTTTGGACTTCTGT
		GCTCATGCCCACAGAGACTTGCACAACATGCAGAATGGC AGCACATTGGTATGCACTCTCACTAGAGAAG
		ACAATCGAGAATTTGGAGGAAAACCTGAGGATGAGCAGC TTCACGTTCTGCCTTTATACAAAGTCTCTGA
		CGTGGATGAGTTTGGGAGTGTGGAAGCTCAGGAGGAGA AAAAACGGAGTGGTGCCATTCAGGTACTGAGT
		TCTTTTCGGCGAAAAGTCAGGATGTTAGCAGAGCCAGTC AAGACTTGCCGACAAAGGAAACTAGAAGCCA
		AGAAAGCTGCAGCTGAAAAGCTTTCCTCCCTGGAGAACA GCTCAAATAAAAATGAAAAGGAAAAGTCAGC
		CCCATCACGTACAAAACAAACTGAAAACGCAAGCCAGGC TAAACAGTTGGCAGAACTTTTGCGACTTTCA
		GGACCAGTCATGCAGCAGTCCCAGCAGCCCCAGCCTCT ACAGAAGCAGCCACCACAGCCCCAGCAGCAGC
		AGAGACCCCAGCAGCAGCAGCCACATCACCCTCAGACA GAGTCTGTCAACTCTTATTCTGCTTCTGGATC

		CACCAATCCATACATGAGACGGCCCAATCCAGTTAGTCC TTATCCAAACTCTTCACACACTTCAGATATC
		TATGGAAGCACCAGCCCTATGAACTTCTATTCCACCTCAT CTCAAGCTGCAGGTTCATATTTGAATTCTT
		CTAATCCCATGAACCCTTACCCTGGGCTTTTGAATCAGAA TACCCAATATCCATCATATCAATGCAATGG
		AAACCTATCAGTGGACAACTGCTCCCCATATCTGGGTTC CTATTCTCCCCAGTCTCAGCCGATGGATCTG
		TATAGGTATCCAAGCCAAGACCCTCTGTCTAAGCTCAGT CTACCACCCATCCATACACTTTACCAGCCAA
		GGTTTGGAAATAGCCAGAGTTTTACATCTAAATACTTAGG TTATGGAAACCAAAATATGCAGGGAGATGG
		TTTCAGCAGTTGTACCATTAGACCAAATGTACATCATGTA GGGAAATTGCCTCCTTATCCCACTCATGAG
		ATGGATGGCCACTTCATGGGAGCCACCTCTAGATTACCA CCCAATCTGAGCAATCCAAACATGGACTATA
		AAAATGGTGAACATCATTCACCTTCTCACATAATCCATAA CTACAGTGCAGCTCCGGGCATGTTCAACAG
		CTCTCTTCATGCCCTGCATCTCCAAAACAAGGAGAATGA CATGCTTTCCCACACAGCTAATGGGTTATCA
		AAGATGCTTCCAGCTCTTAACCATGATAGAACTGCTTGTG TCCAAGGAGGCTTACACAAATTAAGTGATG
		CTAATGGTCAGGAAAAGCAGCCATTGGCACTAGTCCAGG GTGTGGCTTCTGGTGCAGAGGACAACGATGA
		GGTCTGGTCAGACAGCGAGCAGAGCTTTCTGGATCCTG ACATTGGGGGAGTGGCCGTGGCTCCAACTCAT
		GGGTCAATTCTCATTGAGTGTGCAAAGCGTGAGCTGCAT GCCACAACCCCTTTAAAGAATCCCAATAGGA
		ATCACCCCACCAGGATCTCCCTCGTCTTTTACCAGCATA AGAGCATGAATGAGCCAAAACATGGCTTGGC
		TCTTTGGGAAGCCAAAATGGCTGAAAAAGCCCGTGAGAA AGAGGAAGAGTGTGAAAAGTATGGCCCAGAC
		TATGTGCCTCAGAAATCCCATGGCAAAAAAGTGAAACGG

		GAGCCTGCTGAGCCACATGAAACTTCAGAGC
		CCACTTACCTGCGTTTCATCAAGTCTCTTGCCGAAAGGA CCATGTCCGTGACCACAGACTCCACAGTAAC
		TACATCTCCATATGCCTTCACTCGGGTCACAGGGCCTTA CAACAGATATATATGATATCACCCCCTTTTG
		TTGGTTACCTCACTTGAAAAGACCACAACCAACCTGTCA GTAGTATAGTTCTCATGACGTGGGCAGTGGG
		GAAAGGTCACAGTATTCATGACAAATGTGGTGGGAAAAA CCTCAGCTCACCAGCAACAAAAGAGGTTATC
		TTACCATAGCACTTAATTTTCACTGGCTCCCAAGTGGTCA CAGATGGCATCTAGGAAAAGACCAAAGCAT
		TCTATGCAAAAAGAAGGTGGGGAAGAAAGTGTTCCGCAA TTTACATTTTTAAACACTGGTTCTATTATTG
		GACGAGATGATATGTAAATGTGATCCCCCCCCCCCCGCTT ACAACTCTACACATCTGTGACCACTTTTAAT
		AATATCAAGTTTGCATAGTCATGGAACACAAATCAAACAA GTACTGTAGTATTACAGTGACAGGAATCTT
		AAAATACCATCTGGTGCTGAATATATGATGTACTGAAATA CTGGAATTATGGCTTTTTGAAATGCAGTTT
		TTACTGTAATCTTAACTTTTATTTATCAAAATAGCTACAGG AAACATGAATAGCAGGAAAACACTGAATT
		TGTTTGGATGTTCTAAGAAATGGTGCTAAGAAAATGGTGT CTTTAATAGCTAAAAATTTAATGCCTTTAT
		ATCATCAAGATGCTATCAGTGTACTCCAGTGCCCTTGAAT AATAGGGGTACCTTTTCATTCAAGTTTTTA
		TCATAATTACCTATTCTTACACAAGCTTAGTTTTTAAAATG TGGACATTTTAAAGGCCTCTGGATTTTGC
		TCATCCAGTGAAGTCCTTGTAGGACAATAAACGTATATAT GTACATATATACACAAACATGTATATGTGC
		ACACACATGTATATGTATAAATATTTTAAATGGTGTTTTAG AAGCACTTTGTCTACCTAAGCTTTGACAA
		CTTGAACAATGCTAAGGTACTGAGATGTTTAAAAAACAAG TTTACTTTCATTTTAGAATGCAAAGTTGAT

		TTTTTTAAGGAAACAAAGAAAGCTTTTAAAATATTTTTGCT TTTAGCCATGCATCTGCTGATGAGCAATT GTGTCCATTTTTAACACAGCCAGTTAAATCCACCATGGG GCTTACTGGATTCAAGGGAATACGTTAGTCC ACAAAACATGTTTTCTGGTGCTCATCTCACATGCTATACT GTAAAACAGTTTTATACAAAATTGTATGAC AAGTTCATTGCTCAAAAATGTACAGTTTTAAGAATTTTCTA TTAACTGCAGGTAATAATTAGCTGCATGC TGCAGACTCAACAAAGCTAGTTCACTGAAGCCTATGCTA TTTTATGGATCATAGGCTCTTCAGAGAACTG AATGGCAGTCTGCCTTTGTGTTGATAATTATGTACATTGT GACGTTGTCATTTCTTAGCTTAAGTGTCCT CTTTAACAAGAGGATTGAGCAGACTGATGCCTGCATAAG ATGAATAAACAGGGTTAGTTCCATGTGAATC TGTCAGTTAAAAAGAAACAAAAACAGGCAGCTGGTTTGC TGTGGTGGTTTTAAATCATTAATTTGTATAA AGAAGTGAAAGAGTTGTATAGTAAATTAAATTGTAAACAA AACTTTTTTAATGCAATGCTTTAGTATTTT AGTACTGTAAAAAAATTAAATATATACATATATATATATAT ATATATATATATATATATGAGTTTGAAGC AGAATTCACATCATGATGGTGCTACTCAGCCTGCTACAA ATATATCATAATGTGAGCTAAGAATTCATTA AATGTTTGAGTGATGTTCCTACTTGTCATATACCTCAACA CTAGTTTGGCAATAGGATATTGAACTGAGA GTGAAAGCATTGTGTACCATCATTTTTTTCCAAGTCCTTT TTTTTATTGTTAAAAAAAAAAGCATACCTT TTTTCAATACTTGATTTCTTAGCAAGTATAACTTGAACTTC AACCTTTTTGTTCTAAAAATTCAGGGATA TTTCAGCTCATGCTCTCCCTATGCCAACATGTCACCTGTG TTTATGTAAAATTGTTGTAGGTTAATAAAT ATATTCTTTGTCAGGGATTTAACCCTTTTATTTTGAATCCC TTCTATTTTACTTGTACATGTGCTGATGT AACTAAAACTAATTTTGTAAATCTGTTGGCTCTTTTTATTG

		TAAAGAAAAGCATTTTAAAAGTTTGAGGA ATCTTTTGACTGTTTCAAGCAGGAAAAAAAAATTACATGA AAATAGAATGCACTGAGTTGATAAAGGGAA AAATTGTAAGGCAGGAGTTTGGCAAGTGGCTGTTGGCCA GAGACTTACTTGTAACTCTCTAAATGAAGTT TTTTTGATCCTGTAATCACTGAAGGTACATACTCCATGTG GACTTCCCTTAAACAGGCAAACACCTACAG GTATGGTGTGCAACAGATTGTACAATTACATTTTGGCCTA AATACATTTTTGCTTACTAGTATTTAAAAT AAATTCTTAATCAGAGGAGGCCTTTGGGTTTTATTGGTCA AATCTTTGTAAGCTGGCTTTTGTCTTTTTA AAAAATTTCTTGAATTTGTGGTTGTGTCCAATTTGCAAAC ATTTCCAAAAATGTTTGCTTTGCTTACAAA CCACATGATTTTAATGTTTTTTGTATACCATAATATCTAGC CCCAAACATTTGATTACTACATGTGCATT GGTGATTTTGATCATCCATTCTTAATATTTGATTTCTGTGT CACCTACTGTCATTTGTTAAACTGCTGGC CAACAAGAACAGGAAGTATAGTTTGGGGGGTTGGGGAG AGTTTACATAAGGAAGAGAAGAAATTGAGTGG CATATTGTAAATATCAGATCTATAATTGTAAATATAAAACC TGCCTCAGTTAGAATGAATGGAAAGCAGA TCTACAATTTGCTAATATAGGAATATCAGGTTGACTATAT AGCCATACTTGAAAATGCTTCTGAGTGGTG TCAACTTTACTTGAATGAATTTTTCATCTTGATTGACGCAC AGTGATGTACAGTTCACTTCTGAAGCTAG TGGTTAACTTGTGTAGGAAACTTTTGCAGTTTGACACTAA GATAACTTCTGTGTGCATTTTTCTATGCTT TTTTAAAAACTAGTTTCATTTCATTTTCATGAGATGTTTGG TTTATAAGATCTGAGGATGGTTATAAATA CTGTAAGTATTGTAATGTTATGAATGCAGGTTATTTGAAA GCTGTTTATTATTATATCATTCCTGATAAT GCTATGTGAGTGTTTTTAATAAAATTTATATTTATTTAATG CACTCTAA

Metilcitosina dioxigenase tet 2 (TET2) de *Homo sapiens*, variante de transcrito 2, mRNA [SEQ ID Nº: 1361]	NM_017628.4	AAACAGAAGGTGGGCCGGGGCGGGGAGAAACAGAACTC GGTCAATTTCCCAGTTTGTCGGGTCTTTAAAA ATACAGGCCCCTAAAGCACTAAGGGCATGCCCTCGGTG AAACAGGGGAGCGCTTCTGCTGAATGAGATTA AAGCGACAGAAAAGGGAAAGGAGAGCGCGGGCAACGG GATCTAAAGGGAGATAGAGACGCGGGCCTCTGA GGGCTGGCAAACATTCAGCAGCACACCCTCTCAAGATTG TTTACTTGCCTTTGCTCCTGTTGAGTTACAA CGCTTGGAAGCAGGAGATGGGCTCAGCAGCAGCCAATA GGACATGATCCAGGAAGAGCAGTAAGGGACTG AGCTGCTGAATTCAACTAGAGGGCAGCCTTGTGGATGGC CCCGAAGCAAGCCTGATGGAACAGGATAGAA CCAACCATGTTGAGGGCAACAGACTAAGTCCATTCCTGA TACCATCACCTCCCATTTGCCAGACAGAACC TCTGGCTACAAAGCTCCAGAATGGAAGCCCACTGCCTGA GAGAGCTCATCCAGAAGTAAATGGAGACACC AAGTGGCACTCTTTCAAAAGTTATTATGGAATACCCTGTA TGAAGGGAAGCCAGAATAGTCGTGTGAGTC CTGACTTTACACAAGAAAGTAGAGGGTATTCCAAGTGTTT GCAAAATGGAGGAATAAAACGCACAGTTAG TGAACCTTCTCTCTCTGGGCTCCTTCAGATCAAGAAATTG AAACAAGACCAAAAGGCTAATGGAGAAAGA CGTAACTTCGGGGTAAGCCAAGAAAGAAATCCAGGTGAA AGCAGTCAACCAAATGTCTCCGATTTGAGTG ATAAGAAAGAATCTGTGAGTTCTGTAGCCCAAGAAAATG CAGTTAAAGATTTCACCAGTTTTTCAACACA TAACTGCAGTGGGCCTGAAAATCCAGAGCTTCAGATTCT GAATGAGCAGGAGGGGAAAAGTGCTAATTAC CATGACAAGAACATTGTATTACTTAAAAACAAGGCAGTGC TAATGCCTAATGGTGCTACAGTTTCTGCCT CTTCCGTGGAACACACACATGGTGAACTCCTGGAAAAAA CACTGTCTCAATATTATCCAGATTGTGTTTC CATTGCGGTGCAGAAAACCACATCTCACATAAATGCCAT

		TAACAGTCAGGCTACTAATGAGTTGTCCTGT
		GAGATCACTCACCCATCGCATACCTCAGGGCAGATCAAT TCCGCACAGACCTCTAACTCTGAGCTGCCTC
		CAAAGCCAGCTGCAGTGGTGAGTGAGGCCTGTGATGCT GATGATGCTGATAATGCCAGTAAACTAGCTGC
		AATGCTAAATACCTGTTCCTTTCAGAAACCAGAACAACTA CAACAACAAAAATCAGTTTTTGAGATATGC
		CCATCTCCTGCAGAAAATAACATCCAGGGAACCACAAAG CTAGCGTCTGGTGAAGAATTCTGTTCAGGTT
		CCAGCAGCAATTTGCAAGCTCCTGGTGGCAGCTCTGAAC GGTATTTAAAACAAAATGAAATGAATGGTGC
		TTACTTCAAGCAAAGCTCAGTGTTCACTAAGGATTCCTTT TCTGCCACTACCACACCACCACCACCATCA
		CAATTGCTTCTTTCTCCCCCTCCTCCTCTTCCACAGGTTC CTCAGCTTCCTTCAGAAGGAAAAAGCACTC
		TGAATGGTGGAGTTTTAGAAGAACACCACCACTACCCCA ACCAAAGTAACACAACACTTTTAAGGGAAGT
		GAAAATAGAGGGTAAACCTGAGGCACCACCTTCCCAGAG TCCTAATCCATCTACACATGTATGCAGCCCT
		TCTCCGATGCTTTCTGAAAGGCCTCAGAATAATTGTGTGA ACAGGAATGACATACAGACTGCAGGGACAA
		TGACTGTTCCATTGTGTTCTGAGAAAACAAGACCAATGTC AGAACACCTCAAGCATAACCCACCAATTTT
		TGGTAGCAGTGGAGAGCTACAGGACAACTGCCAGCAGT TGATGAGAAACAAAGAGCAAGAGATTCTGAAG
		GGTCGAGACAAGGAGCAAACACGAGATCTTGTGCCCCC AACACAGCACTATCTGAAACCAGGATGGATTG
		AATTGAAGGCCCCTCGTTTTCACCAAGCGGAATCCCATC TAAAACGTAATGAGGCATCACTGCCATCAAT
		TCTTCAGTATCAACCCAATCTCTCCAATCAAATGACCTCC AAACAATACACTGGAAATTCCAACATGCCT
		GGGGGGCTCCCAAGGCAAGCTTACACCCAGAAAACAAC ACAGCTGGAGCACAAGTCACAAATGTACCAAG

		TTGAAATGAATCAAGGGCAGTCCCAAGGTACAGTGGACC AACATCTCCAGTTCCAAAAACCCTCACACCA
		GGTGCACTTCTCCAAAACAGACCATTTACCAAAAGCTCAT GTGCAGTCACTGTGTGGCACTAGATTTCAT
		TTTCAACAAAGAGCAGATTCCCAAACTGAAAAACTTATGT CCCCAGTGTTGAAACAGCACTTGAATCAAC
		AGGCTTCAGAGACTGAGCCATTTTCAAACTCACACCTTTT GCAACATAAGCCTCATAAACAGGCAGCACA
		AACACAACCATCCCAGAGTTCACATCTCCCTCAAAACCA GCAACAGCAGCAAAAATTACAAATAAAGAAT
		AAAGAGGAAATACTCCAGACTTTTCCTCACCCCCAAAGC AACAATGATCAGCAAAGAGAAGGATCATTCT
		TTGGCCAGACTAAAGTGGAAGAATGTTTTCATGGTGAAA ATCAGTATTCAAAATCAAGCGAGTTCGAGAC
		TCATAATGTCCAAATGGGACTGGAGGAAGTACAGAATAT AAATCGTAGAAATTCCCCTTATAGTCAGACC
		ATGAAATCAAGTGCATGCAAAATACAGGTTTCTTGTTCAA ACAATACACACCTAGTTTCAGAGAATAAAG
		AACAGACTACACATCCTGAACTTTTTGCAGGAAACAAGA CCCAAAACTTGCATCACATGCAATATTTTCC
		AAATAATGTGATCCCAAAGCAAGATCTTCTTCACAGGTGC TTTCAAGAACAGGAGCAGAAGTCACAACAA
		GCTTCAGTTCTACAGGGATATAAAAATAGAAACCAAGATA TGTCTGGTCAACAAGCTGCGCAACTTGCTC
		AGCAAAGGTACTTGATACATAACCATGCAAATGTTTTTCC TGTGCCTGACCAGGGAGGAAGTCACACTCA
		GACCCCTCCCCAGAAGGACACTCAAAAGCATGCTGCTCT AAGGTGGCATCTCTTACAGAAGCAAGAACAG
		CAGCAAACACAGCAACCCCAAACTGAGTCTTGCCATAGT CAGATGCACAGGCCAATTAAGGTGGAACCTG
		GATGCAAGCCACATGCCTGTATGCACACAGCACCACCAG AAAACAAAACATGGAAAAAGGTAACTAAGCA
		AGAGAATCCACCTGCAAGCTGTGATAATGTGCAGCAAAA

		GAGCATCATTGAGACCATGGAGCAGCATCTG
		AAGCAGTTTCACGCCAAGTCGTTATTTGACCATAAGGCT CTTACTCTCAAATCACAGAAGCAAGTAAAAG
		TTGAAATGTCAGGGCCAGTCACAGTTTTGACTAGACAAA CCACTGCTGCAGAACTTGATAGCCACACCCC
		AGCTTTAGAGCAGCAAACAACTTCTTCAGAAAAGACACC AACCAAAAGAACAGCTGCTTCTGTTCTCAAT
		AATTTTATAGAGTCACCTTCCAAATTACTAGATACTCCTAT AAAAAATTTATTGGATACACCTGTCAAGA
		CTCAATATGATTTCCCATCTTGCAGATGTGTAGGTAAGTG CCAGAAATGTACTGAGACACATGGCGTTTA
		TCCAGAATTAGCAAATTTATCTTCAGATATGGGATTTTCC TTCTTTTTTTAAATCTTGAGTCTGGCAGCA
		ATTTGTAAAGGCTCATAAAAATCTGAAGCTTACATTTTTTG TCAAGTTACCGATGCTTGTGTCTTGTGAA
		AGAGAACTTCACTTACATGCAGTTTTTCCAAAAGAATTAA ATAATCGTGCATGTTTATTTTTCCCTCTCT
		TCAGATCCTGTAAAATTTGAATGTATCTGTTTTAGATCAAT TCGCCTATTTAGCTCTTTGTATATTATCT
		CCTGGAGAGACAGCTAGGCAGCAAAAAAACAATCTATTA AAATGAGAAAATAACGACCATAGGCAGTCTA
		ATGTACGAACTTTAAATATTTTTTAATTCAAGGTAAAATAT ATTAGTTTCACAAGATTTCTGGCTAATAG
		GGAAATTATTATCTTCAGTCTTCATGAGTTGGGGGAAATG ATAATGCTGACACTCTTAGTGCTCCTAAAG
		TTTCCTTTTCTCCATTTATACATTTGGAATGTTGTGATTTA TATTCATTTTGATTCCCTTTTCTCTAAAA
		TTTCATCTTTTTGATTAAAAAATATGATACAGGCATACCTC AGAGATATTGTGGGTTTGGCTCCATACCA
		CAATAAAATGAATATTACAATAAAGCAAGTTGTAAGGACT TTTTGGTTTCTCACTGTATGTAAAAGTTAT
		TTATATACTATACTGTAACATACTAAGTGTGCAATAGCATT GTGTCTAAAAAATATATACTTTAAAAATA

		ATTTATTGTTAAAAAAATGCCAACAATTATCTGGGCCTTTA GTGAGTGCTAATCTTTTTGCTGGTGGAGG
		GTCGTGCTTCAGTATTGATCGCTGTGGACTGATCATGGT GGTAGTTGCTGAAGGTTGCTGGGATGGCTGT
		GTGTGTGGCAATTTCTTAAAATAAGACAACAGTGAAGTG CTGTATCAATTGATTTTTCCATTCACAAAAG
		ATTTCTCTGTAGCATGCAATGCTGTTTGATAGCATTTAAC CCACAGCAGAATTTCTTTGAAAATTGGACT
		CAGTCCTCTCAAACTGTGCTGCTGCTTTATCAACTAAGTT TTTGTAATTTTCTGAATCCTTTGTTGTCAT
		TTCAGCAGTTTACAGCATCTTCATTGGAAGTATATTCCAT CTCAAACATTCTTTGTTCATCCATAAGAAG
		CAACTTCTTATCAAGTTTTTTCATGACATTGCAGTAACTCA GCCCCATCTTCAGGCTCTACTTCTAATTC
		TGGTTCTCTTGCTACATCTCCCTCATCTGCAGTGACCTCT CCACGGAAGTCTTGAACTCCTCAAAGTAAT
		CCATGAGGGTTGGAATCAACTTCTAAACTCCTGTTAATGT TGATATATTGACCCCCTCCCATGAATTATG
		AATGTTCTTAATAACTTCTAAATGGTGATACCTTTCCAGA AGGCTTTCAATGTACTTTGCCCGGATCCAT
		CAGAAGACTATCTTGGCAGCTGTAGACTAACAATATATTT CTTAAATGATAAGACTTGAAAGTCAAAAGT
		ACTCCTTAATCCATAGGCTGCAGAATCAATGTTGTATTAA CAGGCACGAAAACAGCATTAATCTTGTGCA
		TCTCCATCGGAGCTCTTGGGTGACTAGGTGCCTTGAGCA GTAATATTTTGAAAGGAGGTTTTGGTTTTGT
		TTTTTGTTTTTTTTTTTTGTTTTTTAGCAGTAAGTCTCAACA CTGGGCTTAAAATATTCAGTAAACTATG
		TTGTAAAAAGATGTGTTATCATCCAGACTTTGTTGTTCCA TTACTCTACACAAGCAGGGTACACTTAGCA
		TAATTCTTAAGGGCCTTGGAATTTTCAGAATGGTAAATGA GTATGGGCTTCAACTTAAAATCATCAACTG
		CATTAGCCTGTAACAAGAGAGTCAGCCTGTCCTTTGAAG

		CAAGGCATTGACTTCTATCTATGAAAGTCTT
		AGATGGCACCTTGTTTCAATAGTAGGCTGTTTAGTACAG CCACCTTCATCAGTGATCTTAGCTAGATCTT
		CTGCATAACTTGCTGCAGCTTCTACATCAGCACTTGCTG CCTCACCTTGTCCTTTTATGTTATAGAGACA
		GCTGCGCTTCTTAAACTTTATAAACCAACTTCTGCTAGCT TCCAACTTCTCTTCTGCAGCTTCCTCATTC
		TCTTCATAGAACTGAAGGGAGTCAAGGCCTTGCTCTGGA TTAAGCTTTGGCTTAAGGAATGTTGTGGCTG
		ACGTGATCTTCTATCCAGACCACTAAAGCGCTCTCCATAT CAGCAATAAGGCCGTTTTGCTTTCTTACCT
		TTCATGTGTTCACTGGAGTAATTTCCTTCAAGAATTTTTC CTTTACATTCACAACTTGGCTAACTGGCAT
		GCAAGGCCTAGCTTTCAGCCTGTCTTGGCTTTTGACATG CCTTCCTCACTTAGCTCGTCATATCTAGCTT
		TTGATTTAAAGTGGCAGGCATACAACTCTTCCTTTCACTT GAACACTTAGAGGCCACTGTAGGGTTATTA
		ATTGGCCTAATTTCAATATTGTTGTGTTTTAGGGAATAGA GAGGCCCAGGGAGAGGGAGAGAGCCCAAAC
		GGCTGGTTGATAGAGCAGGCAGAATGCACACAACATTTA TCAGATTATGTTTGCACCATTTACCAGATTA
		TGGGTACGGTTTGTGGCACCCCCCAAAAATTAGAATAGT AACATCAAAGATCACTGATCACAGATCGCCA
		TAACATAAATAATAATAAACTTTAAAATACTGTGAGAATTA CCAAAATGTGATACAGAGACATGAAGTGA
		GCACATGCTGTTGAAAAAAATGACACTGATAGACATACTT AACACGTGGGATTGCCACAAACCTTCAGTT
		TGTAAAAGTCACAGTAACTGTGACTCACAAAAGAACAAA GCACAATAAAACGAGGTATGCCTGTATTTTT
		AAAAAAAGCTTTTTGTTAAAATTCAGGATATGTAATAGGT CTGTAGGAATAGTGAAATATTTTTGCTGAT
		GGATGTAGATATATACGTGGATAGAGATGAAGATCTTAAT TATAGCTATGCAGCATAGATTTAGTCAAAG

		ACATTTGAAAAGACAAATGTTAAATTAGTGTGGCTAATGA CCTACCCGTGCCATGTTTTCCCTCTTGCAA TGAGATACCCCACACTGTGTAGAAGGATGGAGGGAGGA CTCCTACTGTCCCTCTTTGCGTGTGGTTATTA AGTTGCCTCACTGGGCTAAAACACCACACATCTCATAGA TAATATTTGGTAAGTTGTAATCGTCTTCACT CTTCTCTTATCACCCACCCCTATCTTCCCACTTTTCCATC TTTGTTGGTTTGCAACAGCCCCTTCTTTTT GCCTGACTCTCCAGGATTTTCTCTCATCATAAATTGTTCT AAAGTACATACTAATATGGGTCTGGATTGA CTATTCTTATTTGCAAAACAGCAATTAAATGTTATAGGGA AGTAGGAAGAAAAAGGGGTATCCTTGACAA TAAACCAAGCAATATTCTGGGGGGTGGGATAGAGCAGGAA ATTTTATTTTTAATCTTTTAAAATCCAAGTA ATAGGTAGGCTTCCAGTTAGCTTTAAATGTTTTTTTTTTCC AGCTCAAAAAATTGGATTGTAGTTGATAC TACATATAATACATTCTAATTCCCTCACTGTATTCTTTGTT TAGTTTCATTTATTTGGTTTAAAATAATT TTTTATCCCATATCTGAAATGTAATATATTTTTATCCAACA ACCAGCATGTACATATACTTAATTATGTG GCACATTTTCTAATAGATCAGTCCATCAATCTACTCATTTT AAAGAAAAAAAAATTTTAAAGTCACTTTT AGAGCCCTTAATGTGTAGTTGGGGGTTAAGCTTTGTGGA TGTAGCCTTTATATTTAGTATAATTGAGGTC TAAAATAATAATCTTCTATTATCTCAACAGAGCAAATTATT GAAAAAGATGAAGGTCCTTTTTATACCCA TCTAGGAGCAGGTCCTAATGTGGCAGCTATTAGAGAAAT CATGGAAGAAAGGTAATTAACGCAAAGGCAC AGGGCAGATTAACGTTTATCCTTTTGTATATGTCAGAATT TTTCCAGCCTTCACACACAAAGCAGTAAAC AATTGTAAATTGAGTAATTATTAGTAGGCTTAGCTATTCTA GGGTTGCCAACACTACACACTGTGCTATT CACCAGAGAGTCACAATATTTGACAGGACTAATAGTCTG

		CTAGCTGGCACAGGCTGCCCACTTTGCGATG
		GATGCCAGAAAACCCAGGCATGAACAGGAATCGGCCAG CCAGGCTGCCAGCCACAAGGTACTGGCACAGG
		CTCCAACGAGAGGTCCCACTCTGGCTTTCCCACCTGATA ATAAAGTGTCAAAGCAGAAAGACTGGTAAAG
		TGTGGTATAAGAAAAGAACCACTGAATTAAATTCACCTAG TGTTGCAAATGAGTACTTATCTCTAAGTTT
		TCTTTTACCATAAAAAGAGAGCAAGTGTGATATGTTGAAT AGAAAGAGAAACATACTATTTACAGCTGCC
		TTTTTTTTTTTTTTTCGCTATCAATCACAGGTATACAAGTA CTTGCCTTTACTCCTGCATGTAGAAGACT
		CTTATGAGCGAGATAATGCAGAGAAGGCCTTTCATATAA ATTTATACAGCTCTGAGCTGTTCTTCTTCTA
		GGGTGCCTTTTCATTAAGAGGTAGGCAGTATTATTATTAA AGTACTTAGGATACATTGGGGCAGCTAGGA
		CATATTCAGTATCATTCTTGCTCCATTTCCAAATTATTCAT TTCTAAATTAGCATGTAGAAGTTCACTAA
		ATAATCATCTAGTGGCCTGGCAGAAATAGTGAATTTCCCT AAGTGCCTTTTTTTTGTTGTTTTTTTGTTT
		TGTTTTTTAAACAAGCAGTAGGTGGTGCTTTGGTCATAAG GGAAGATATAGTCTATTTCTAGGACTATTC
		CATATTTTCCATGTGGCTGGATACTAACTATTTGCCAGCC TCCTTTTCTAAATTGTGAGACATTCTTGGA
		GGAACAGTTCTAACTAAAATCTATTATGACTCCCCAAGTT TTAAAATAGCTAAATTTAGTAAGGGAAAAA
		ATAGTTTATGTTTTAGAAGACTGAACTTAGCAAACTAACC TGAATTTTGTGCTTTGTGAAATTTTATATC
		GAAATGAGCTTTCCCATTTTCACCCACATGTAATTTACAA AATAGTTCATTACAATTATCTGTACATTTT
		GATATTGAGGAAAAACAAGGCTTAAAAACCATTATCCAGT TTGCTTGGCGTAGACCTGTTTAAAAAATAA
		TAAACCGTTCATTTCTCAGGATGTGGTCATAGAATAAAGT TATGCTCAAATGTTCAAATATTTAAA

PREVISTA: Metilcitosina dioxigenase tet 2 (TET2) de *Homo sapiens*, variante de transcrito X9, mRNA [SEQ ID Nº: 1362]	XM_011532044.1	TCAGGCTCTACTTCTAATTCTGGTTCTCTTGCTACATCTC CCTCATCTGCAGTGACCTCTCCACGGAAGT CTTGAACTCCTCAAAAGCAAATTATTGAAAAAGATGAAGG TCCTTTTTATACCCATCTAGGAGCAGGTCC TAATGTGGCAGCTATTAGAGAAATCATGGAAGAAAGGTT TGGACAGAAGGGTAAAGCTATTAGGATTGAA AGAGTCATCTATACTGGTAAAGAAGGCAAAAGTTCTCAG GGATGTCCTATTGCTAAGTGGGTGGTTCGCA GAAGCAGCAGTGAAGAGAAGCTACTGTGTTTGGTGCGG GAGCGAGCTGGCCACACCTGTGAGGCTGCAGT GATTGTGATTCTCATCCTGGTGTGGGAAGGAATCCCGCT GTCTCTGGCTGACAAACTCTACTCGGAGCTT ACCGAGACGCTGAGGAAATACGGCACGCTCACCAATCG CCGGTGTGCCTTGAATGAAGAGAGAACTTGCG CCTGTCAGGGGCTGGATCCAGAAACCTGTGGTGCCTCC TTCTCTTTTGGTTGTTCATGGAGCATGTACTA CAATGGATGTAAGTTTGCCAGAAGCAAGATCCCAAGGAA GTTTAAGCTGCTTGGGGATGACCCAAAAGAG GAAGAGAAACTGGAGTCTCATTTGCAAAACCTGTCCACT CTTATGGCACCAACATATAAGAAACTTGCAC CTGATGCATATAATAATCAGATTGAATATGAACACAGAGC ACCAGAGTGCCGTCTGGGTCTGAAGGAAGG CCGTCCATTCTCAGGGGTCACTGCATGTTTGGACTTCTG TGCTCATGCCCACAGAGACTTGCACAACATG CAGAATGGCAGCACATTGGTATGCACTCTCACTAGAGAA GACAATCGAGAATTTGGAGGAAAACCTGAGG ATGAGCAGCTTCACGTTCTGCCTTTATACAAAGTCTCTGA CGTGGATGAGTTTGGGAGTGTGGAAGCTCA GGAGGAGAAAAAACGGAGTGGTGCCATTCAGGTACTGA GTTCTTTTCGGCGAAAAGTCAGGATGTTAGCA GAGCCAGTCAAGACTTGCCGACAAAGGAAACTAGAAGC CAAGAAAGCTGCAGCTGAAAAGCTTTCCTCCC TGGAGAACAGCTCAAATAAAAATGAAAAGGAAAAGTCAG

		CCCCATCACGTACAAAACAAACTGAAAACGC
		AAGCCAGGCTAAACAGTTGGCAGAACTTTTGCGACTTTC AGGACCAGTCATGCAGCAGTCCCAGCAGCCC
		CAGCCTCTACAGAAGCAGCCACCACAGCCCCAGCAGCA GCAGAGACCCCAGCAGCAGCAGCCACATCACC
		CTCAGACAGAGTCTGTCAACTCTTATTCTGCTTCTGGATC CACCAATCCATACATGAGACGGCCCAATCC
		AGTTAGTCCTTATCCAAACTCTTCACACACTTCAGATATC TATGGAAGCACCAGCCCTATGAACTTCTAT
		TCCACCTCATCTCAAGCTGCAGGTTCATATTTGAATTCTT CTAATCCCATGAACCCTTACCCTGGGCTTT
		TGAATCAGAATACCCAATATCCATCATATCAATGCAATGG AAACCTATCAGTGGACAACTGCTCCCCATA
		TCTGGGTTCCTATTCTCCCCAGTCTCAGCCGATGGATCT GTATAGGTATCCAAGCCAAGACCCTCTGTCT
		AAGCTCAGTCTACCACCCATCCATACACTTTACCAGCCA AGGTTTGGAAATAGCCAGAGTTTTACATCTA
		AATACTTAGGTTATGGAAACCAAAATATGCAGGGAGATG GTTTCAGCAGTTGTACCATTAGACCAAATGT
		ACATCATGTAGGGAAATTGCCTCCTTATCCCACTCATGA GATGGATGGCCACTTCATGGGAGCCACCTCT
		AGATTACCACCCAATCTGAGCAATCCAAACATGGACTATA AAAATGGTGAACATCATTCACCTTCTCACA
		TAATCCATAACTACAGTGCAGCTCCGGGCATGTTCAACA GCTCTCTTCATGCCCTGCATCTCCAAAACAA
		GGAGAATGACATGCTTTCCCACACAGCTAATGGGTTATC AAAGATGCTTCCAGCTCTTAACCATGATAGA
		ACTGCTTGTGTCCAAGGAGGCTTACACAAATTAAGTGAT GCTAATGGTCAGGAAAAGCAGCCATTGGCAC
		TAGTCCAGGGTGTGGCTTCTGGTGCAGAGGACAACGAT GAGGTCTGGTCAGACAGCGAGCAGAGCTTTCT
		GGATCCTGACATTGGGGGAGTGGCCGTGGCTCCAACTC ATGGGTCAATTCTCATTGAGTGTGCAAAGCGT

		GAGCTGCATGCCACAACCCCTTTAAAGAATCCCAATAGG AATCACCCCACCAGGATCTCCCTCGTCTTTT ACCAGCATAAGAGCATGAATGAGCCAAAACATGGCTTGG CTCTTTGGGAAGCCAAAATGGCTGAAAAAGC CCGTGAGAAAGAGGAAGAGTGTGAAAAGTATGGCCCAG ACTATGTGCCTCAGAAATCCCATGGCAAAAAA GTGAAACGGGAGCCTGCTGAGCCACATGAAACTTCAGA GCCCACTTACCTGCGTTTCATCAAGTCTCTTG CCGAAAGGACCATGTCCGTGACCACAGACTCCACAGTAA CTACATCTCCATATGCCTTCACTCGGGTCAC AGGGCCTTACAACAGATATATATGATATCACCCCCTTTTG TTGGTTACCTCACTTGAAAAGACCACAACC AACCTGTCAGTAGTATAGTTCTCATGACGTGGGCAGTGG GGAAAGGTCACAGTATTCATGACAAATGTGG TGGGAAAAACCTCAGCTCACCAGCAACAAAAGAGGTTAT CTTACCATAGCACTTAATTTTCACTGGCTCC CAAGTGGTCACAGATGGCATCTAGGAAAAGACCAAAGCA TTCTATGCAAAAAGAAGGTGGGGAAGAAAGT GTTCCGCAATTTACATTTTTAAACACTGGTTCTATTATTGG ACGAGATGATATGTAAATGTGATCCCCCC CCCCCGCTTACAACTCTACACATCTGTGACCACTTTTAAT AATATCAAGTTTGCATAGTCATGGAACACA AATCAAACAAGTACTGTAGTATTACAGTGACAGGAATCTT AAAATACCATCTGGTGCTGAATATATGATG TACTGAAATACTGGAATTATGGCTTTTTGAAATGCAGTTT TTACTGTAATCTTAACTTTTATTTATCAAA ATAGCTACAGGAAACATGAATAGCAGGAAAACACTGAAT TTGTTTGGATGTTCTAAGAAATGGTGCTAAG AAAATGGTGTCTTTAATAGCTAAAAATTTAATGCCTTTATA TCATCAAGATGCTATCAGTGTACTCCAGT GCCCTTGAATAATAGGGGTACCTTTTCATTCAAGTTTTTA TCATAATTACCTATTCTTACACAAGCTTAG TTTTTAAAATGTGGACATTTTAAAGGCCTCTGGATTTTGC

		TCATCCAGTGAAGTCCTTGTAGGACAATAA ACGTATATATGTACATATATACACAAACATGTATATGTGC ACACACATGTATATGTATAAATATTTTAAA TGGTGTTTTAGAAGCACTTTGTCTACCTAAGCTTTGACAA CTTGAACAATGCTAAGGTACTGAGATGTTT AAAAAACAAGTTTACTTTCATTTTAGAATGCAAAGTTGATT TTTTTAAGGAAACAAAGAAAGCTTTTAAA ATATTTTTGCTTTTAGCCATGCATCTGCTGATGAGCAATT GTGTCCATTTTTAACACAGCCAGTTAAATC CACCATGGGGCTTACTGGATTCAAGGGAATACGTTAGTC CACAAAACATGTTTTCTGGTGCTCATCTCAC ATGCTATACTGTAAAACAGTTTTATACAAAATTGTATGACA AGTTCATTGCTCAAAAATGTACAGTTTTA AGAATTTTCTATTAACTGCAGGTAATAATTAGCTGCATGC TGCAGACTCAACAAAGCTAGTTCACTGAAG CCTATGCTATTTTATGGATCATAGGCTCTTCAGAGAACTG AATGGCAGTCTGCCTTTGTGTTGATAATTA TGTACATTGTGACGTTGTCATTTCTTAGCTTAAGTGTCCT CTTTAACAAGAGGATTGAGCAGACTGATGC CTGCATAAGATGAATAAACAGGGTTAGTTCCATGTGAATC TGTCAGTTAAAAAGAAACAAAAACAGGCAG CTGGTTTGCTGTGGTGGTTTTAAATCATTAATTTGTATAA AGAAGTGAAAGAGTTGTATAGTAAATTAAA TTGTAAACAAAACTTTTTTAATGCAATGCTTTAGTATTTTA GTACTGTAAAAAAATTAAATATATACATA TATATATATATATATATATATATATATATGAGTTTGAAGCA GAATTCACATCATGATGGTGCTACTCAGC CTGCTACAAATATATCATAATGTGAGCTAAGAATTCATTA AATGTTTGAGTGATGTTCCTACTTGTCATA TACCTCAACACTAGTTTGGCAATAGGATATTGAACTGAGA GTGAAAGCATTGTGTACCATCATTTTTTTC CAAGTCCTTTTTTTTATTGTTAAAAAAAAAAGCATACCTTT TTTCAATACTTGATTTCTTAGCAAGTATA

		ACTTGAACTTCAACCTTTTTGTTCTAAAAATTCAGGGATAT TTCAGCTCATGCTCTCCCTATGCCAACAT GTCACCTGTGTTTATGTAAAATTGTTGTAGGTTAATAAAT ATATTCTTTGTCAGGGATTTAACCCTTTTA TTTTGAATCCCTTCTATTTTACTTGTACATGTGCTGATGTA ACTAAAACTAATTTTGTAAATCTGTTGGC TCTTTTTATTGTAAAGAAAAGCATTTTAAAAGTTTGAGGAA TCTTTTGACTGTTTCAAGCAGGAAAAAAA AATTACATGAAAATAGAATGCACTGAGTTGATAAAGGGAA AAATTGTAAGGCAGGAGTTTGGCAAGTGGC TGTTGGCCAGAGACTTACTTGTAACTCTCTAAATGAAGTT TTTTTGATCCTGTAATCACTGAAGGTACAT ACTCCATGTGGACTTCCCTTAAACAGGCAAACACCTACA GGTATGGTGTGCAACAGATTGTACAATTACA TTTTGGCCTAAATACATTTTTGCTTACTAGTATTTAAAATA AATTCTTAATCAGAGGAGGCCTTTGGGTT TTATTGGTCAAATCTTTGTAAGCTGGCTTTTGTCTTTTTAA AAAATTTCTTGAATTTGTGGTTGTGTCCA ATTTGCAAACATTTCCAAAAATGTTTGCTTTGCTTACAAAC CACATGATTTTAATGTTTTTTGTATACCA TAATATCTAGCCCCAAACATTTGATTACTACATGTGCATT GGTGATTTTGATCATCCATTCTTAATATTT GATTTCTGTGTCACCTACTGTCATTTGTTAAACTGCTGGC CAACAAGAACAGGAAGTATAGTTTGGGGGG TTGGGGAGAGTTTACATAAGGAAGAGAAGAAATTGAGTG GCATATTGTAAATATCAGATCTATAATTGTA AATATAAAACCTGCCTCAGTTAGAATGAATGGAAAGCAG ATCTACAATTTGCTAATATAGGAATATCAGG TTGACTATATAGCCATACTTGAAAATGCTTCTGAGTGGTG TCAACTTTACTTGAATGAATTTTTCATCTT GATTGACGCACAGTGATGTACAGTTCACTTCTGAAGCTA GTGGTTAACTTGTGTAGGAAACTTTTGCAGT TTGACACTAAGATAACTTCTGTGTGCATTTTTCTATGCTTT

		TTTAAAAACTAGTTTCATTTCATTTTCAT GAGATGTTTGGTTTATAAGATCTGAGGATGGTTATAAATA CTGTAAGTATTGTAATGTTATGAATGCAGG TTATTTGAAAGCTGTTTATTATTATATCATTCCTGATAATG CTATGTGAGTGTTTTTAATAAAATTTATA TTTATTTAATGCACTCTAA
PREVISTA: Metilcitosina dioxigenase tet 2 (TET2) de *Homo sapiens*, variante de transcrito X7, mRNA [SEQ ID Nº: 1363]	XM_011532043.1	GTAGAGAAGCAGAAGGAAGCAAGATGGCTGCCCTTTAG GATTTGTTAGAAAGGAGACCCGACTGCAACTG CTGGATTGCTGCAAGGCTGAGGGACGAGAACGAGGCTG GCAAACATTCAGCAGCACACCCTCTCAAGATT GTTTACTTGCCTTTGCTCCTGTTGAGTTACAACGCTTGGA AGCAGGAGATGGGCTCAGCAGCAGCCAATA GGACATGATCCAGGAAGAGCAGTAAGGGACTGAGCTGC TGAATTCAACTAGAGGGCAGCCTTGTGGATGG CCCCGAAGCAAGCCTGATGGAACAGGATAGAACCAACC ATGTTGAGGGCAACAGACTAAGTCCATTCCTG ATACCATCACCTCCCATTTGCCAGACAGAACCTCTGGCT ACAAAGCTCCAGAATGGAAGCCCACTGCCTG AGAGAGCTCATCCAGAAGTAAATGGAGACACCAAGTGGC ACTCTTTCAAAAGTTATTATGGAATACCCTG TATGAAGGGAAGCCAGAATAGTCGTGTGAGTCCTGACTT TACACAAGAAAGTAGAGGGTATTCCAAGTGT TTGCAAAATGGAGGAATAAAACGCACAGTTAGTGAACCT TCTCTCTCTGGGCTCCTTCAGATCAAGAAAT TGAAACAAGACCAAAAGGCTAATGGAGAAAGACGTAACT TCGGGGTAAGCCAAGAAAGAAATCCAGGTGA AAGCAGTCAACCAAATGTCTCCGATTTGAGTGATAAGAA AGAATCTGTGAGTTCTGTAGCCCAAGAAAAT GCAGTTAAAGATTTCACCAGTTTTTCAACACATAACTGCA GTGGGCCTGAAAATCCAGAGCTTCAGATTC TGAATGAGCAGGAGGGGAAAAGTGCTAATTACCATGACA AGAACATTGTATTACTTAAAAACAAGGCAGT GCTAATGCCTAATGGTGCTACAGTTTCTGCCTCTTCCGT

		GGAACACACACATGGTGAACTCCTGGAAAAA
		ACACTGTCTCAATATTATCCAGATTGTGTTTCCATTGCGG TGCAGAAAACCACATCTCACATAAATGCCA
		TTAACAGTCAGGCTACTAATGAGTTGTCCTGTGAGATCA CTCACCCATCGCATACCTCAGGGCAGATCAA
		TTCCGCACAGACCTCTAACTCTGAGCTGCCTCCAAAGCC AGCTGCAGTGGTGAGTGAGGCCTGTGATGCT
		GATGATGCTGATAATGCCAGTAAACTAGCTGCAATGCTA AATACCTGTTCCTTTCAGAAACCAGAACAAC
		TACAACAACAAAAATCAGTTTTTGAGATATGCCCATCTCC TGCAGAAAATAACATCCAGGGAACCACAAA
		GCTAGCGTCTGGTGAAGAATTCTGTTCAGGTTCCAGCAG CAATTTGCAAGCTCCTGGTGGCAGCTCTGAA
		CGGTATTTAAAACAAAATGAAATGAATGGTGCTTACTTCA AGCAAAGCTCAGTGTTCACTAAGGATTCCT
		TTTCTGCCACTACCACACCACCACCACCATCACAATTGCT TCTTTCTCCCCCTCCTCCTCTTCCACAGGT
		TCCTCAGCTTCCTTCAGAAGGAAAAAGCACTCTGAATGG TGGAGTTTTAGAAGAACACCACCACTACCCC
		AACCAAAGTAACACAACACTTTTAAGGGAAGTGAAAATAG AGGGTAAACCTGAGGCACCACCTTCCCAGA
		GTCCTAATCCATCTACACATGTATGCAGCCCTTCTCCGAT GCTTTCTGAAAGGCCTCAGAATAATTGTGT
		GAACAGGAATGACATACAGACTGCAGGGACAATGACTGT TCCATTGTGTTCTGAGAAAACAAGACCAATG
		TCAGAACACCTCAAGCATAACCCACCAATTTTTGGTAGCA GTGGAGAGCTACAGGACAACTGCCAGCAGT
		TGATGAGAAACAAAGAGCAAGAGATTCTGAAGGGTCGAG ACAAGGAGCAAACACGAGATCTTGTGCCCCC
		AACACAGCACTATCTGAAACCAGGATGGATTGAATTGAA GGCCCCTCGTTTTCACCAAGCGGAATCCCAT
		CTAAAACGTAATGAGGCATCACTGCCATCAATTCTTCAGT ATCAACCCAATCTCTCCAATCAAATGACCT

		CCAAACAATACACTGGAAATTCCAACATGCCTGGGGGGC TCCCAAGGCAAGCTTACACCCAGAAAACAAC ACAGCTGGAGCACAAGTCACAAATGTACCAAGTTGAAAT GAATCAAGGGCAGTCCCAAGGTACAGTGGAC CAACATCTCCAGTTCCAAAAACCCTCACACCAGGTGCAC TTCTCCAAAACAGACCATTTACCAAAAGCTC ATGTGCAGTCACTGTGTGGCACTAGATTTCATTTTCAACA AAGAGCAGATTCCCAAACTGAAAAACTTAT GTCCCCAGTGTTGAAACAGCACTTGAATCAACAGGCTTC AGAGACTGAGCCATTTTCAAACTCACACCTT TTGCAACATAAGCCTCATAAACAGGCAGCACAAACACAA CCATCCCAGAGTTCACATCTCCCTCAAAACC AGCAACAGCAGCAAAAATTACAAATAAAGAATAAAGAGG AAATACTCCAGACTTTTCCTCACCCCCAAAG CAACAATGATCAGCAAAGAGAAGGATCATTCTTTGGCCA GACTAAAGTGGAAGAATGTTTTCATGGTGAA AATCAGTATTCAAAATCAAGCGAGTTCGAGACTCATAATG TCCAAATGGGACTGGAGGAAGTACAGAATA TAAATCGTAGAAATTCCCCTTATAGTCAGACCATGAAATC AAGTGCATGCAAAATACAGGTTTCTTGTTC AAACAATACACACCTAGTTTCAGAGAATAAAGAACAGACT ACACATCCTGAACTTTTTGCAGGAAACAAG ACCCAAAACTTGCATCACATGCAATATTTTCCAAATAATG TGATCCCAAAGCAAGATCTTCTTCACAGGT GCTTTCAAGAACAGGAGCAGAAGTCACAACAAGCTTCAG TTCTACAGGGATATAAAAATAGAAACCAAGA TATGTCTGGTCAACAAGCTGCGCAACTTGCTCAGCAAAG GTACTTGATACATAACCATGCAAATGTTTTT CCTGTGCCTGACCAGGGAGGAAGTCACACTCAGACCCC TCCCCAGAAGGACACTCAAAAGCATGCTGCTC TAAGGTGGCATCTCTTACAGAAGCAAGAACAGCAGCAAA CACAGCAACCCCAAACTGAGTCTTGCCATAG TCAGATGCACAGGCCAATTAAGGTGGAACCTGGATGCAA

		GCCACATGCCTGTATGCACACAGCACCACCA
		GAAAACAAAACATGGAAAAAGGTAACTAAGCAAGAGAAT CCACCTGCAAGCTGTGATAATGTGCAGCAAA
		AGAGCATCATTGAGACCATGGAGCAGCATCTGAAGCAGT TTCACGCCAAGTCGTTATTTGACCATAAGGC
		TCTTACTCTCAAATCACAGAAGCAAGTAAAAGTTGAAATG TCAGGGCCAGTCACAGTTTTGACTAGACAA
		ACCACTGCTGCAGAACTTGATAGCCACACCCCAGCTTTA GAGCAGCAAACAACTTCTTCAGAAAAGACAC
		CAACCAAAAGAACAGCTGCTTCTGTTCTCAATAATTTTAT AGAGTCACCTTCCAAATTACTAGATACTCC
		TATAAAAAATTTATTGGATACACCTGTCAAGACTCAATAT GATTTCCCATCTTGCAGATGTGTAGAGCAA
		ATTATTGAAAAAGATGAAGGTCCTTTTTATACCCATCTAG GAGCAGGTCCTAATGTGGCAGCTATTAGAG
		AAATCATGGAAGAAAGGTATACAAGTACTTGCCTTTACTC CTGCATGTAGAAGACTCTTATGAGCGAGAT
		AATGCAGAGAAGGCCTTTCATATAAATTTATACAGCTCTG AGCTGTTCTTCTTCTAGGGTGCCTTTTCAT
		TAAGAGGTAGGCAGTATTATTATTAAAGTACTTAGGATAC ATTGGGGCAGCTAGGACATATTCAGTATCA
		TTCTTGCTCCATTTCCAAATTATTCATTTCTAAATTAGCAT GTAGAAGTTCACTAAATAATCATCTAGTG
		GCCTGGCAGAAATAGTGAATTTCCCTAAGTGCCTTTTTTT TGTTGTTTTTTTGTTTTGTTTTTTAAACAA
		GCAGTAGGTGGTGCTTTGGTCATAAGGGAAGATATAGTC TATTTCTAGGACTATTCCATATTTTCCATGT
		GGCTGGATACTAACTATTTGCCAGCCTCCTTTTCTAAATT GTGAGACATTCTTGGAGGAACAGTTCTAAC
		TAAAATCTATTATGACTCCCCAAGTTTTAAAATAGCTAAAT TTAGTAAGGGAAAAAATAGTTTATGTTTT
		AGAAGACTGAACTTAGCAAACTAACCTGAATTTTGTGCTT TGTGAAATTTTATATCGAAATGAGCTTTCC

		CATTTTCACCCACATGTAATTTACAAAATAGTTCATTACAATTATCTGTACATTTTGATATTGAGGAAAA ACAAGGCTTAAAAACCATTATCCAGTTTGCTTGGCGTAGACCTGTTTAAAAAATAATAAACCGTTCATTT CTCAGGATGTGGTCATAGAATAAAGTTATGCTCAAATGTTCAAA

[0223] O "inibidor de Tet" ou "inibidor de Tet[x]" (por exemplo, "inibidor de Tet1", "inibidor de Tet2" ou "inibidor de Tet3"), como os termos são usados aqui, se relaciona com uma molécula, ou grupo de moléculas (por exemplo, um sistema) que reduz ou elimina a função e/ou expressão do Tet correspondente, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Em modalidades, um inibidor de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 é uma molécula que inibe a expressão de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, por exemplo, reduz ou elimina a expressão de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Em modalidades, o inibidor de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 é uma molécula que inibe a função de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Um exemplo de inibidor de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 que inibe a expressão de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 é um sistema de edição genética, por exemplo, como descrito aqui, que é direcionado para ácido nucleico dentro do gene Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, ou seus elementos reguladores, de modo que a modificação do ácido nucleico no(s) sítio(s) de ligação do sistema de edição genética ou perto deste(s) é modificada para reduzir ou eliminar a expressão de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Outro exemplo de um inibidor de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 que inibe a expressão de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 é uma molécula de ácido

nucleico, por exemplo, molécula de RNA, por exemplo, um RNA em grampo curto (shRNA) ou RNA interferente curto (siRNA), capaz de hibridar com mRNA de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 e causar uma redução ou eliminação da tradução de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Inibidores de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 também incluem ácidos nucleicos codificando moléculas que inibem a expressão de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 (por exemplo, ácido nucleico codificando um shRNA ou siRNA anti-Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, ou ácido nucleico codificando um ou mais, por exemplo, todos, dos componentes de um sistema de edição genética anti-Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Um exemplo de uma molécula que inibe a função de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 é uma molécula, por exemplo, uma proteína ou molécula pequena que inibe uma ou mais atividades de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Um exemplo é um inibidor de molécula pequena de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Outro exemplo é uma proteína Tet negativa dominante, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Outro exemplo é uma versão negativa dominante de um parceiro de ligação de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, por exemplo, uma histona desacetilase (HDAC) associada. Outro exemplo é uma molécula, por exemplo, uma molécula pequena, que inibe um parceiro de ligação de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, por exemplo, um inibidor de HDAC associado a Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2. Inibidores de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2 também incluem ácidos nucleicos codificando inibidores da função de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2.

[0224] Os termos "inibidor de IFNG" e "inibidor de IFN-γ" são usados aqui alternadamente e se relacionam com uma molécula, ou grupo de moléculas (por exemplo, um sistema), que reduz ou elimina a expressão e/ou função de IFN-γ. Inibidores de IFN-γ incluem todos os antagonistas ou inibidores de todas as formas adequadas de IFN-γ, receptores de IFN-γ (por exemplo, receptor de IFN-γ 1 e/ou receptor de IFN-γ 2) ou efetores de IFN-γ (por exemplo, TNFSF14, TNFRSF3, TNFRSF14 ou TNFRSF6B). Inibidores de IFN-γ exemplificativos incluem, mas não se limitam a, um sistema de edição genética visando o gene IFN-γ ou um seu elemento regulador; uma molécula de ácido nucleico, por exemplo, molécula de RNA, por exemplo, um RNA em grampo curto (shRNA) ou RNA interferente curto (siRNA), que reduz a tradução de IFN-γ; e uma proteína, peptídeo ou molécula pequena que inibe uma ou mais atividades de IFN-γ.

[0225] Um "inibidor de NOTCH2", como o termo é usado aqui, se relaciona com uma molécula, ou grupo de moléculas (por exemplo, um sistema), que reduz ou elimina a expressão e/ou função de NOTCH2. Inibidores de Notch2 exemplificativos incluem, mas não se limitam a, um sistema de edição genética visando o gene NOTCH2 ou um seu elemento regulador; uma molécula de ácido nucleico, por exemplo, molécula de RNA, por exemplo, um RNA em grampo curto (shRNA) ou RNA interferente curto (siRNA), que reduz a tradução de NOTCH2; e uma proteína, peptídeo ou molécula pequena que inibe uma ou mais atividades de NOTCH2.

[0226] Um "inibidor de IL2RA", como o termo é usado aqui, se relaciona com uma molécula, ou grupo de moléculas (por exemplo, um sistema), que reduz ou elimina a expressão e/ou função de IL2RA. Inibidores de IL2RA exemplificativos incluem, mas não se limitam a, um sistema de edição genética visando o gene IL2RA ou um seu elemento regulador; uma molécula de ácido nucleico, por exemplo, molécula de

RNA, por exemplo, um RNA em grampo curto (shRNA) ou RNA interferente curto (siRNA), que reduz a tradução de IL2RA; e uma proteína, peptídeo ou molécula pequena que inibe uma ou mais atividades de IL2RA.

[0227] Um "inibidor de PRDM1", como o termo é usado aqui, se relaciona com uma molécula, ou grupo de moléculas (por exemplo, um sistema), que reduz ou elimina a expressão e/ou função de PRDM1. Inibidores de PRDM1 exemplificativos incluem, mas não se limitam a, um sistema de edição genética visando o gene PRDM1 ou um seu elemento regulador; uma molécula de ácido nucleico, por exemplo, molécula de RNA, por exemplo, um RNA em grampo curto (shRNA) ou RNA interferente curto (siRNA), que reduz a tradução de PRDM1; e uma proteína, peptídeo ou molécula pequena que inibe uma ou mais atividades de PRDM1.

[0228] Um "gene associado a Tet2", como usado aqui, se relaciona com um gene cuja estrutura, expressão e/ou função, ou um gene codificando um produto genético (por exemplo, um mRNA ou um polipeptídeo) cuja estrutura, expressão e/ou função, estão associadas a (por exemplo, afetadas ou moduladas por) Tet2. O gene associado a Tet2 não inclui um gene Tet2.

[0229] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes descritos aqui. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes descritos na Tabela 8. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes descritos na Tabela 9.

[0230] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou todos os) genes escolhidos de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

[0231] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende PRDM1.

[0232] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e NOTCH2. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IL2RA e PRDM1.

[0233] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e CD28. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2 e

PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28 e ICOS. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende ICOS, IL2RA e PRDM1.

[0234] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2

compreende IFNG, CD28, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, IL2RA e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, ICOS e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, ICOS e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28 e PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28 e IL2RA. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28 e ICOS.

[0235] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS e IL2RA. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, IL2RA e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1. Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1.

[0236] Em algumas modalidades, o gene associado a Tet2 compreende IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA e PRDM1.

[0237] Em certas modalidades, a expressão e/ou função do gene associado a Tet2 são alteradas quando a expressão e/ou função de Tet2 são inibidas. Em algumas modalidades, a expressão e/ou função do gene associado a Tet2 são reduzidas ou eliminadas quando a expressão e/ou função de Tet2 são inibidas. Em outras modalidades, a expressão e/ou função do gene associado a Tet2 são aumentadas ou

ativadas quando a expressão e/ou função de Tet2 são inibidas.

[0238] Em algumas modalidades, o gene ou produto genético associado a Tet2 é um membro de uma via biológica associada a Tet2 (por exemplo, associada a inibição de Tet2). Em certas modalidades, o gene ou produto genético associado a Tet2 está a jusante de Tet2 na via. Em uma modalidade, o gene ou produto genético associado a Tet2 está a montante de Tet2 na via.

[0239] Em certas modalidades, o gene associado a Tet2 codifica um produto genético (por exemplo, um polipeptídeo) que interage, direta ou indiretamente, com Tet2 (por exemplo, um gene ou produto genético Tet2). Em outras modalidades, o gene associado a Tet2 codifica um produto genético (por exemplo, um polipeptídeo) que não interage com Tet2 (por exemplo, um gene ou produto genético Tet2).

[0240] Como usado aqui, um "modulador" de um "gene associado a Tet2" se relaciona com uma molécula, ou grupo de moléculas (por exemplo, um sistema) que modula (por exemplo, reduz ou elimina, ou aumenta ou ativa) a função e/ou expressão de um gene associado a Tet2. Em certas modalidades, o modulador reduz ou elimina a expressão e/ou função de um gene associado a Tet2. Em outra modalidade, o modulador aumenta ou ativa a expressão e/ou função de um gene associado a Tet2. Em certas modalidades, o modulador é um inibidor de um gene associado a Tet2. Em outras modalidades, o modulador é um ativador de um gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, o modulador é um sistema de edição genética que é direcionado para ácido nucleico dentro do gene associado a Tet2 ou um seu elemento regulador, por exemplo, de modo que o ácido nucleico é modificado no(s) sítio(s) de ligação do sistema de edição genética ou perto deste(s) para modular a expressão e/ou função do gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, o modulador é um componente do sistema de edição genética, ou um ácido nucleico codificando um

componente do sistema de edição genética. Em outras modalidades, o modulador é uma molécula de ácido nucleico, por exemplo, molécula de RNA, por exemplo, um RNA em grampo curto (shRNA) ou RNA interferente curto (siRNA), capaz de hibridar com um mRNA do gene associado a Tet2, por exemplo, causando uma redução ou eliminação de um produto genético associado a Tet2. Em outras modalidades, o modulador é um ácido nucleico codificando a molécula de RNA, por exemplo, shRNA ou siRNA. Em algumas modalidades, o modulador é um produto genético de um gene associado a Tet2, ou um ácido nucleico codificando o produto genético, por exemplo, para sobre-expressão do gene associado a Tet2. Em outras modalidades, o modulador é uma molécula pequena que modula a expressão e/ou função do gene associado a Tet2. Em outras modalidades, o modulador é uma proteína que modula a expressão e/ou função do gene associado a Tet2. Por exemplo, o modulador pode ser uma variante (por exemplo, uma variante negativa dominante ou uma variante constitutivamente ativa), ou um parceiro de ligação, de um produto genético do gene associado a Tet2. Em algumas modalidades, o modulador é um ácido nucleico que codifica a proteína acima mencionada. O modulador pode modular (por exemplo, inibir ou ativar) a expressão e/ou função de um gene associado a Tet2 antes, de modo concorrente com ou após a transcrição do gene associado a Tet2, e/ou antes, de modo concorrente com ou após a tradução do gene associado a Tet2.

[0241] Um "gene associado a Tet", como usado aqui, se relaciona com um gene cuja estrutura, expressão e/ou função, ou um gene codificando um produto genético (por exemplo, um mRNA ou um polipeptídeo) cuja estrutura, expressão e/ou função, estão associadas a (por exemplo, afetadas ou moduladas por) Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3). O gene associado a Tet não inclui um gene Tet (por exemplo, um gene Tet1, Tet2 e/ou Tet3).

[0242] Em certas modalidades, a expressão e/ou função do gene associado a Tet são alteradas quando a expressão e/ou função de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) são inibidas. Em algumas modalidades, a expressão e/ou função do gene associado a Tet são reduzidas ou eliminadas quando a expressão e/ou função de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) são inibidas. Em outras modalidades, a expressão e/ou função do gene associado a Tet são aumentadas ou ativadas quando a expressão e/ou função de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) são inibidas.

[0243] Em algumas modalidades, o gene ou produto genético associado a Tet é um membro de uma via biológica associada a um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) (por exemplo, associada a inibição de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3)). Em certas modalidades, o gene ou produto genético associado a Tet está a jusante de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) na via. Em uma modalidade, o gene ou produto genético associado a Tet está a montante de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) na via.

[0244] Em certas modalidades, o gene associado a Tet codifica um produto genético (por exemplo, um polipeptídeo) que interage, direta ou indiretamente, com um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) (por exemplo, um gene ou produto genético Tet). Em outras modalidades, o gene associado a Tet codifica um produto genético (por exemplo, um polipeptídeo) que não interage com um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3) (por exemplo, um gene ou produto genético Tet).

[0245] Como usado aqui, um "modulador" de um "gene associado a Tet" se relaciona com uma molécula, ou grupo de moléculas (por exemplo, um sistema) que modula (por exemplo, reduz ou elimina, ou aumenta ou ativa) a função e/ou expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet1, Tet2 e/ou Tet3). Em certas modalidades, o modulador reduz ou elimina a expressão e/ou função de

um gene associado a Tet. Em outra modalidade, o modulador aumenta ou ativa a expressão e/ou função de um gene associado a Tet. Em certas modalidades, o modulador é um inibidor de um gene associado a Tet. Em outras modalidades, o modulador é um ativador de um gene associado a Tet. Em algumas modalidades, o modulador é um sistema de edição genética que é direcionado para ácido nucleico dentro do gene associado a Tet ou um seu elemento regulador, por exemplo, de modo que o ácido nucleico é modificado no(s) sítio(s) de ligação do sistema de edição genética ou perto deste(s) para modular a expressão e/ou função do gene associado a Tet. Em algumas modalidades, o modulador é um componente do sistema de edição genética, ou um ácido nucleico codificando um componente do sistema de edição genética. Em outras modalidades, o modulador é uma molécula de ácido nucleico, por exemplo, molécula de RNA, por exemplo, um RNA em grampo curto (shRNA) ou RNA interferente curto (siRNA), capaz de hibridar com um mRNA do gene associado a Tet, por exemplo, causando uma redução ou eliminação de um produto genético associado a Tet. Em outras modalidades, o modulador é um ácido nucleico codificando a molécula de RNA, por exemplo, shRNA ou siRNA. Em algumas modalidades, o modulador é um produto genético de um gene associado a Tet, ou um ácido nucleico codificando o produto genético, por exemplo, para sobre-expressão do gene associado a Tet. Em outras modalidades, o modulador é uma molécula pequena que modula a expressão e/ou função do gene associado a Tet. Em outras modalidades, o modulador é uma proteína que modula a expressão e/ou função do gene associado a Tet. Por exemplo, o modulador pode ser uma variante (por exemplo, uma variante negativa dominante ou uma variante constitutivamente ativa), ou um parceiro de ligação, de um produto genético do gene associado a Tet. Em algumas modalidades, o modulador é um ácido nucleico que codifica a proteína acima

mencionada. O modulador pode modular (por exemplo, inibir ou ativar) a expressão e/ou função de um gene associado a Tet antes, de modo concorrente com ou após a transcrição do gene associado a Tet, e/ou antes, de modo concorrente com ou após a tradução do gene associado a Tet.

[0246] Um "sistema", como o termo é usado aqui em conexão com edição ou modulação (por exemplo, inibição ou ativação) genética de um Tet e/ou um gene associado a Tet, por exemplo, Tet2 e/ou um gene associado a Tet2, se relaciona com um grupo de moléculas, por exemplo, uma ou mais moléculas, que atuam conjuntamente para desempenhar uma função desejada.

[0247] Um "sistema de edição genética", como o termo é usado aqui, se relaciona com um sistema, por exemplo, uma ou mais moléculas, que dirigem e efetuam uma alteração, por exemplo, uma deleção, de um ou mais ácidos nucleicos no sítio ou próximo de um sítio de DNA genômico visado pelo referido sistema. Sistemas de edição genética são conhecidos na técnica e são descritos de modo mais completo abaixo.

[0248] Um "parceiro de ligação", como o termo é usado aqui no contexto de um Tet e/ou uma molécula associada a Tet, por exemplo, Tet2 e/ou uma molécula associada a Tet2, se relaciona com uma molécula, por exemplo, uma proteína, que interage, por exemplo, se liga a, um Tet e/ou um produto genético associado a Tet, por exemplo, Tet2 e/ou um produto genético associado a Tet2. Sem ficar restringido pela teoria, se crê que Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, se liga a uma ou mais proteínas HDAC. Tais proteínas HDAC são consideradas exemplos de parceiros de ligação Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2.

[0249] Um produto genético ou proteína "negativo dominante" é tal que interfere na função de outro produto genético ou proteína. O outro

produto genético afetado pode ser igual ou diferente da proteína negativa dominante. Produtos genéticos negativos dominantes podem ser de muitas formas, incluindo truncamentos, proteínas completas com mutações pontuais ou seus fragmentos, ou fusões de proteínas completas de tipo selvagem ou mutantes ou seus fragmentos com outras proteínas. O nível de inibição observado pode ser muito baixo. Por exemplo, pode requerer um grande excesso da proteína negativa dominante em comparação com a proteína ou proteínas funcionais envolvidas em um processo de modo a ser observado um efeito. Pode ser difícil observar efeitos sob condições normais de ensaios biológicos. Em uma modalidade, uma variante negativa dominante de um produto genético associado a Tet (por exemplo, um produto genético associado a Tet2) é um produto genético cataliticamente inativo codificado por uma variante de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2). Em outra modalidade, um parceiro de ligação negativo dominante de um produto genético associado a Tet (por exemplo, um produto genético associado a Tet2) é um produto genético cataliticamente inativo codificado por uma variante de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2). Em uma modalidade, um Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, negativo dominante é um Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, cataliticamente inativo. Em outra modalidade, um parceiro de ligação de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, negativo dominante é um inibidor de HDAC que se liga a Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2, cataliticamente inativo.

[0250] Sem pretender ficar restringido pela teoria, uma célula tendo um "fenótipo de células T de memória central (Tcm)" expressa CCR7 e CD45RO. Em uma modalidade, uma célula tendo um fenótipo de células T de memória central expressa CCR7 e CD45RO e/ou não expressa ou expressa níveis mais baixos de CD45RA em comparação com uma

célula T virgem. Em uma modalidade, uma célula tendo um fenótipo de células T de memória central expressa CD45RO e CD62L e/ou não expressa ou expressa níveis mais baixos de CD45RA em comparação com uma célula T virgem. Em uma modalidade, uma célula tendo um fenótipo de células T de memória central expressa CCR7, CD45RO e CD62L e/ou não expressa ou expressa níveis mais baixos de CD45RA em comparação com uma célula T virgem.

[0251] Sem pretender ficar restringido pela teoria, uma célula tendo um "fenótipo de células T de memória efetora (Tem)" não expressa ou expressa níveis mais baixos de CCR7 e expressa níveis mais elevados de CD45RO em comparação com uma célula T virgem.

[0252] As vias descritas aqui são descritas, por exemplo, pelo Gene Ontology Consortium (por exemplo, Biological Process Ontology) e/ou pelo Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) (por exemplo, conjuntos de genes das vias Hallmark ou Canonical).

[0253] O Biological Process Ontology é descrito, por exemplo, em Ashburner *et al.* "Gene ontology: tool for the unification of biology" (2000) *Nat Genet* 25(1):25-9; The Gene Ontology Consortium. "Gene Ontology Consortium: going forward". (2015) *Nucl Acids Res* 43 Edição da base de dados D1049–D1056. Os conjuntos de genes Hallmark e conjuntos de genes da via Canonical são descritos, por exemplo, em Tamayo, *et al.* (2005) *PNAS* 102, 15545-15550; Mootha, Lindgren, *et al.* (2003) *Nat Genet* 34, 267-273.

[0254] Como usado aqui, uma "via de diferenciação de leucócitos" se relaciona com um processo no qual uma célula precursora hematopoiética relativamente não especializada adquire as características especializadas de um leucócito, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0002521 no Biological Process Ontology.

[0255] Como usado aqui, uma "via de regulação positiva do

processo do sistema imune" se relaciona com um processo que ativa ou aumenta a frequência, velocidade ou extensão de um processo do sistema imune, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0002684 no Biological Process Ontology.

[0256] Como usado aqui, uma "via de sinalização de proteína tirosina quinase receptora de transmembrana" se relaciona com uma via de sinalização iniciada pela ligação de um ligante extracelular a um receptor da superfície celular, em que o receptor da superfície celular possui uma atividade de tirosina quinase, por exemplo, uma ou mais vias classificadas em GO:0007169 no Biological Process Ontology.

[0257] Como usado aqui, uma "via de regulação da morfogênese da estrutura anatômica" se relaciona com um processo que modula a frequência, velocidade ou extensão da morfogênese da estrutura anatômica, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0022603 no Biological Process Ontology.

[0258] Como usado aqui, uma "via de sinalização de TNFA através de NFKB" se relaciona com um processo regulado por NFκB em resposta ao TNF, por exemplo, um processo envolvendo um ou mais genes classificados em M5890 nos conjuntos de genes Hallmark (GSEA).

[0259] Como usado aqui, "via de regulação positiva da atividade de hidrolase" se relaciona com um processo que ativa ou aumenta a frequência, velocidade e/ou extensão de uma atividade de hidrolase, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0051345 no Biological Process Ontology.

[0260] Como usado aqui, "via de cicatrização de feridas" se relaciona com um processo que restabelece a integridade (por exemplo, integridade parcial ou completa) de um tecido danificado após uma lesão, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0042060 no Biological Process Ontology.

[0261] Como usado aqui, uma "via de ativação de células T alfa-beta" se relaciona com um processo envolvendo uma alteração da morfologia e/ou comportamento de uma célula T αβ, por exemplo, resultante de exposição a um mitógeno, citocina, quimiocina, ligante celular ou um antígeno para o qual é específica, por exemplo, uma ou mais alterações classificadas em GO:0046631 no Biological Process Ontology.

[0262] Como usado aqui, uma "via de regulação do movimento de componentes celulares" se relaciona com um processo que modula a frequência, velocidade e/ou extensão do movimento de um componente celular, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0051270 no Biological Process Ontology.

[0263] Como usado aqui, uma "via da resposta inflamatória" se relaciona com uma reação defensiva (por exemplo, uma reação defensiva imediata), por exemplo, por um tecido de vertebrado, a uma infecção ou lesão causada por um agente químico ou físico, por exemplo, uma ou mais reações classificadas em GO:0006954 no Biological Process Ontology. Em algumas modalidades, este processo é caracterizado por vasodilatação local, extravasamento de plasma para espaços intercelulares e/ou acúmulo de leucócitos e macrófagos.

[0264] Como usado aqui, uma "via de diferenciação de células mieloides" se relaciona com um processo em que uma célula precursora mieloide relativamente não especializada adquire as características especializadas de qualquer célula das linhagens mieloides de leucócitos, megacariócitos, trombócitos ou eritrócitos, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0030099 no Biological Process Ontology.

[0265] Como usado aqui, uma "via de produção de citocinas" se relaciona com um processo em que uma citocina é sintetizada ou secretada após um estímulo celular, resultando em um aumento dos

seus níveis intracelulares ou extracelulares, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0001816 no Biological Process Ontology.

[0266] Como usado aqui, uma "via de subregulação em resposta a UV" se relaciona com um processo envolvendo um gene subregulado em resposta a radiação ultravioleta (UV), por exemplo, um ou mais genes classificados em M5942 nos conjuntos de genes Hallmark.

[0267] Como usado aqui, uma "via de regulação negativa do processo de organismos multicelulares" se relaciona com um processo que trava, previne ou reduz a frequência, velocidade e/ou extensão de processo de organismos, os processos pertinentes à função de um organismo acima do nível celular (por exemplo, os processos integrados de tecidos e órgãos), por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0051241 no Biological Process Ontology.

[0268] Como usado aqui, uma "via da morfogênese de vasos sanguíneos" se relaciona com um processo no qual as estruturas anatômicas de vasos sanguíneos são geradas e organizadas, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0048514 no Biological Process Ontology.

[0269] Como usado aqui, uma "via de transcrição dependente de NFAT" se relaciona com um processo relacionado com um gene envolvido na transcrição dependente de NFAT regulada por calcineurina em linfócitos, por exemplo, um ou mais genes classificados em M60 nos conjuntos de genes da via Canonical.

[0270] Como usado aqui, uma "via de regulação positiva do processo apoptótico" se relaciona com um processo que ativa ou aumenta a frequência, velocidade e/ou extensão de apoptose, por exemplo, um ou mais processos classificados em GO:0043065 no Biological Process Ontology.

[0271] Como usado aqui, uma "via de hipoxia" se relaciona com um

processo envolvendo um gene sobrerregulado em resposta a hipoxia, por exemplo, um ou mais genes classificados em M5891 nos conjuntos de genes Hallmark.

[0272] Como usado aqui, uma "via de sobrerregulação por sinalização de KRAS" se relaciona com um processo envolvendo um gene sobrerregulado por ativação de KRAS, por exemplo, um ou mais genes classificados em M5953 nos conjuntos de genes Hallmark.

[0273] Como usado aqui, uma "via da cascata de sinalização de proteína quinases ativadas pelo estresse" se relaciona com uma via de sinalização à qual uma cascata de proteína quinases ativadas pelo estresse (SAPK) transmite um ou mais dos sinais, por exemplo, uma ou mais vias de sinalização classificadas em GO:0031098 no Biological Process Ontology.

Descrição

[0274] A presente invenção proporciona moduladores (por exemplo, inibidores ou ativadores) de genes associados a Tet (por exemplo, genes associados a Tet2) e inibidores de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3), por exemplo, Tet2, e métodos de uso dos mesmos. Em particular, a invenção proporciona células T expressando CAR compreendendo inibidores de um ou mais genes descritos aqui e o uso do um ou mais genes em conexão com células T CAR. Os inibidores da presente invenção, em conjunto com seus métodos de uso, são descritos em mais detalhe abaixo. CARs, células T CAR e métodos de uso são adicionalmente descritos abaixo.

[0275] Sem pretender ficar restringido pela teoria, se crê que, em certas modalidades, células com expressão e/ou função moduladas de um ou mais genes associados a Tet (por exemplo, associados a Tet2) podem exibir hidroximetilação de DNA reduzida e aquisição de um perfil epigenético consistente com diferenciação de células T alterada. Por exemplo, células T CAR com expressão e/ou função moduladas de um

ou mais genes associados a Tet (por exemplo, associados a Tet2) podem exibir um fenótipo de memória inicial que pode diferir de características de diferenciação de memória tardia. Em conformidade, em certas modalidades, a modulação da expressão e/ou função de um ou mais genes na via TET (por exemplo, TET2) pode promover a proliferação de células T, desse modo intensificando o tratamento com células T geneticamente redirecionadas.

Moduladores de Genes Tet e Associados a Tet

[0276] A presente invenção proporciona composições compreendendo, por exemplo, moduladores de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2), opcionalmente, e inibidores de um Tet (Tet1, Tet2, e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) e métodos para intensificar funções de células efetoras imunes, por exemplo, funções de células expressando CAR, por uso de tais composições e/ou outros meios como descrito aqui. Qualquer modulador de um gene associado a Tet (por exemplo, gene associado a Tet2) e qualquer inibidor de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) conhecidos na técnica podem ser usados de acordo com a presente invenção. Exemplos de moduladores de genes associados a Tet (por exemplo, genes associados a Tet2) e inibidores exemplificativos de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) são descritos abaixo.

[0277] Em algumas modalidades, a modulação de quaisquer dos genes associados a Tet2 por quaisquer dos métodos revelados aqui pode ser monoalélica ou bialélica. Em certas modalidades, a modulação é bialélica (por exemplo, dois alelos modulados). Em outras modalidades, a modulação é monoalélica (por exemplo, um alelo modulado e um alelo de tipo selvagem).

Sistemas de Edição Genética

[0278] De acordo com a presente invenção, sistemas de edição

genética podem ser usados como moduladores de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou inibidores de um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Também são contemplados pela presente invenção os usos de ácido nucleico codificando um ou mais componentes de um sistema de edição genética visando um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2).

[0279] Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 é um ou mais (2, 3, 4, 5 ou todos os) genes escolhidos de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 é um ou mais (por exemplo, uma combinação de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 8. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 é um ou mais (por exemplo, uma combinação de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna D. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 é um ou mais (por exemplo, uma combinação de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes associados a uma ou mais (por exemplo, uma combinação de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) vias escolhidas da Tabela 9, Coluna A. Em uma modalidade, o gene associado a Tet2 é um ou mais genes associados a um fenótipo de células T de memória central.

Sistemas de Edição Genética CRISPR/Cas9

[0280] Os sistemas CRISPR/Cas de ocorrência natural são encontrados em aproximadamente 40% dos genomas de eubactérias sequenciados e 90% das *Archaea* sequenciadas. Grissa *et al.* (2007) *BMC Bioinformatics* 8: 172. Esse sistema é um tipo de sistema imunológico procariótico que confere resistência a elementos genéticos estranhos, tais como plasmídeos e fagos, e fornece uma forma de imunidade adquirida. Barrangou *et al.* (2007) *Science* 315: 1709-1712; Marragini *et al.* (2008) *Science* 322: 1843-1845.

[0281] O sistema CRISPR/Cas foi modificado para uso na edição de genes (silenciamento, intensificação ou alteração de genes específicos) em eucariotas, tais como camundongos ou primatas. Wiedenheft *et al.* (2012) *Nature* 482: 331-8. Isso é realizado, por exemplo, por introdução na célula eucariótica de um plasmídeo contendo um CRISPR especificamente projetado e um ou mais Cas apropriados.

[0282] A sequência CRISPR, algumas vezes chamada de lócus CRISPR, compreende repetições e espaçadores alternados. Em um CRISPR de ocorrência natural, os espaçadores compreendem habitualmente sequências estranhas à bactéria, tais como uma sequência plasmídica ou fágica; em um sistema CRISPR/Cas exemplificativo visando um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), os espaçadores são derivados da sequência genética de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), ou uma sequência dos seus elementos reguladores.

[0283] RNA do lócus CRISPR é constitutivamente expresso e processado em pequenos RNAs. Os mesmos compreendem um espaçador flanqueado por uma sequência de repetição. Os RNAs guiam outras proteínas Cas para silenciar elementos genéticos exógenos ao nível do RNA ou DNA. Horvath *et al.* (2010) *Science* 327: 167-170; Makarova *et al.* (2006) *Biology Direct* 1: 7. Os espaçadores servem, assim, como modelos para moléculas de RNA, analogamente a siRNAs. Pennisi (2013) *Science* 341: 833-836.

[0284] À medida que os mesmos ocorrem naturalmente em muitos tipos diferentes de bactérias, as disposições exatas do CRISPR e estrutura, função e número de genes Cas e seu produto diferem de algum modo de espécie para espécie. Haft *et al.* (2005) *PLoS Comput. Biol.* 1: e60; Kunin *et al.* (2007) *Genome Biol.* 8: R61; Mojica *et al.* (2005)

J. Mol. Evol. 60: 174-182; Bolotin *et al.* (2005) *Microbiol.* 151: 2551-2561; Pourcel *et al.* (2005) *Microbiol.* 151: 653-663; e Stern *et al.* (2010) *Trends. Genet.* 28: 335-340. Por exemplo, as proteínas Cse (subtipo Cas, *E. coli*) (por exemplo, CasA) formam um complexo funcional, Cascata, que processa transcritos de RNA de CRISPR em unidades espaçador-repetição de que a Cascata retém. Brouns *et al.* (2008) *Science* 321: 960-964. Em outros procariotas, Cas6 processa o transcrito de CRISPR. A inativação fágica baseada em CRISPR em *E. coli* exige Cascata e Cas3, mas não Cas1 ou Cas2. As proteínas Cmr (módulo Cas RAMP) em *Pyrococcus furiosus* e outros procariotas formam um complexo funcional com pequenos RNAs de CRISPR que reconhece e cliva RNAs-alvo complementares. Um sistema CRISPR mais simples depende da proteína Cas9, que é uma nuclease com dois sítios de corte ativos, um para cada fita da hélice dupla. Combinando Cas9 e lócus de CRISPR modificado, o RNA pode ser usado em um sistema para edição de genes. Pennisi (2013) *Science* 341: 833-836.

[0285] O sistema CRISPR/Cas pode assim ser usado para modificar, por exemplo, deletar, um ou mais ácidos nucleicos, por exemplo, um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), ou um elemento genético regulador de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), ou introduzir uma terminação prematura que, assim, decresce a expressão de um funcional de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). O sistema CRISPR/Cas pode ser alternativamente usado como interferência de RNA, desligando o gene associado a Tet (por exemplo, gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) de um modo reversível. Em uma célula de mamífero,

por exemplo, o RNA pode guiar a proteína Cas para um promotor de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), bloqueando estericamente RNA polimerases.

[0286] Sistemas CRISPR/Cas para edição genética em células eucarióticas envolvem tipicamente (1) uma molécula de RNA-guia (gRNA) compreendendo uma sequência de direcionamento (que é capaz de hibridar com a sequência-alvo de DNA genômico) e uma sequência que é capaz de se ligar a uma enzima Cas, por exemplo, Cas9, e (2) uma proteína Cas, por exemplo, Cas9. A sequência de direcionamento e a sequência que é capaz de se ligar a uma enzima Cas, por exemplo, Cas9, podem ser dispostas na mesma molécula ou em moléculas diferentes. Se forem dispostas em moléculas diferentes, cada uma inclui um domínio de hibridação que permite que as moléculas se associem, por exemplo, através de hibridação.

[0287] Uma molécula de gRNA exemplificativa da presente invenção compreende, por exemplo, consiste em, um primeiro ácido nucleico tendo a sequência (em que os "n"s se referem aos resíduos da sequência de direcionamento (por exemplo, como descrito aqui, por exemplo, na Tabela 3), e pode consistir em 15-25 nucleotídeos, por exemplo, consistir em 20 nucleotídeos):

nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG (SEQ ID Nº: 40),

e uma segunda sequência de ácido nucleico tendo a sequência:

AACUUACCAAGGAACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCC GUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC,

opcionalmente com 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7 (por exemplo, 4 ou 7, por exemplo, 7) nucleotídeos U adicionais na extremidade 3' (SEQ ID Nº: 41).

[0288] A segunda molécula de ácido nucleico pode

alternativamente consistir em um fragmento da sequência acima, em que tal fragmento é capaz de hibridar com o primeiro ácido nucleico. Um exemplo de uma tal segunda molécula de ácido nucleico é: AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUG AAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC, opcionalmente com 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7 (por exemplo, 4 ou 7, por exemplo, 7) nucleotídeos U adicionais na extremidade 3' (SEQ ID Nº: 42).

[0289] Outra molécula de gRNA exemplificativa da presente invenção compreende, por exemplo, consiste em, um primeiro ácido nucleico tendo a sequência (em que os "n"s se referem aos resíduos da sequência de direcionamento (por exemplo, como descrito aqui, por exemplo, na Tabela 3), e pode consistir em 15-25 nucleotídeos, por exemplo, consistir em 20 nucleotídeos): nnnnnnnnnnnnnnnnnnnGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCG GUGC (SEQ ID Nº: 43), opcionalmente com 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7 (por exemplo, 4 ou 7, por exemplo, 4) nucleotídeos U adicionais na extremidade 3'. Podem ser gerados sistemas CRISPR/Cas artificiais que inibem um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), usando tecnologia conhecida na técnica, por exemplo, que são descritos na Publicação U.S. Nº. 20140068797, WO2015/048577, e Cong (2013) *Science* 339: 819-823. Também podem ser gerados outros sistemas CRISPR/Cas artificiais que são conhecidos na técnica que inibem um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), por exemplo, que são descritos em Tsai (2014) *Nature Biotechnol.*, 32:6 569-576, Patente U.S. Nº.: 8,871,445; 8,865,406; 8,795,965; 8,771,945; e 8,697,359, cujo conteúdo é aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

Podem ser gerados sistemas tais que inibem um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), por exemplo, por manipulação de um sistema CRISPR/Cas de modo a incluir uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento que hibrida com uma sequência de um gene-alvo, por exemplo, um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em modalidades, o gRNA compreende uma sequência de direcionamento que é totalmente complementar a 15-25 nucleotídeos, por exemplo, 20 nucleotídeos, de um gene-alvo, por exemplo, um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em modalidades, os 15-25 nucleotídeos, por exemplo, 20 nucleotídeos, de um gene-alvo, por exemplo, um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), são dispostos imediatamente 5' a uma sequência de motivo adjacente protoespaçador (PAM) reconhecida pela proteína Cas do sistema CRISPR/Cas (por exemplo, em que o sistema compreende uma proteína Cas9 de *S. pyogenes*, a sequência PAM compreende NGG, em que N pode ser qualquer de A, T, G ou C). Em modalidades, a sequência de direcionamento do gRNA compreende, por exemplo, consiste em, uma sequência de RNA complementar a uma sequência listada na Tabela 2. Em modalidades, o gRNA compreende uma sequência de direcionamento listada na Tabela 3.

[0290] Em uma modalidade, DNA estranho pode ser introduzido na célula juntamente com o sistema CRISPR/Cas, por exemplo, DNA codificando um CAR, por exemplo, como descrito aqui; dependendo das sequências do DNA estranho e sequência cromossômica, este processo pode ser usado para integrar o DNA codificando o CAR, por

exemplo, como descrito aqui, no sítio ou perto do sítio visado pelo sistema CRISPR/Cas. Como mostrado aqui, nos exemplos, mas sem ficar restringido pela teoria, tal integração pode conduzir à expressão do CAR bem como disrupção de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Tal molécula de DNA estranho é referida aqui como "DNA-modelo". Em modalidades, o DNA-modelo também compreende braços de homologia a 5', 3' ou a 5' e 3' relativamente ao ácido nucleico do DNA-modelo que codifica a molécula ou moléculas de interesse (por exemplo, que codifica um CAR descrito aqui), em que os referidos braços de homologia são complementares a sequência de DNA genômico flanqueando a sequência-alvo.

[0291] Em uma modalidade, o sistema CRISPR/Cas da presente invenção compreende Cas9, por exemplo, Cas9 de *S. pyogenes*, e um gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento que hibrida com uma sequência de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em uma modalidade, o sistema CRISPR/Cas compreende ácido nucleico codificando um gRNA específico para um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), e um ácido nucleico codificando uma proteína Cas, por exemplo, Cas9, por exemplo, Cas9 de *S. pyogenes*. Em uma modalidade, o sistema CRISPR/Cas compreende um gRNA específico para um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), e um ácido nucleico codificando uma proteína Cas, por exemplo, Cas9, por exemplo, Cas9 de *S. pyogenes*.

[0292] Exemplos de sequências genômicas-alvo para Tet2 para as quais podem ser gerados gRNAs compreendendo sequências de

direcionamento complementares para uso na presente invenção são listados na Tabela 2 abaixo. Em modalidades, o gRNA compreende um complemento de RNA de uma Sequência-Alvo da tabela abaixo (por exemplo, para sgTET2_1, o gRNA pode compreender CCUUGGACACCUUCUCCUCC (SEQ ID Nº: 44)). Em modalidades, o gRNA compreende o análogo de RNA de uma Sequência-alvo da tabela 2 abaixo (por exemplo, para sgTET2_1, o gRNA pode compreender GGAACCUGUGGAAGAGGAGG (SEQ ID Nº: 45)). Em modalidades, o inibidor de Tet2 é ácido nucleico codificando uma molécula de gRNA específica para Tet2, em que o ácido nucleico compreende a sequência de uma Sequência-Alvo da tabela 2 abaixo, por exemplo, sob o controle de um promotor de U6 ou H1:

Tabela 2

gRNA ID	Símbolo do Gene	Cromos-somo	Posição	Fita	Sequência-Alvo dentro da sequência do gene Tet2
sgTET2_1	TET2	chr4	106156327	-	GGAACCTGTGGAAGAGGAGG (SEQ ID Nº: 46)
sgTET2_2	TET2	chr4	106156339	-	GAAGGAAGCTGAGGAACCTG (SEQ ID Nº: 47)
sgTET2_3	TET2	chr4	106156897	+	ATGACCTCCAAACAATACAC (SEQ ID Nº: 48)
sgTET2_4	TET2	chr4	106157189	-	CAAGTGCTGTTTCAACACTG (SEQ ID Nº: 49)
sgTET2_5	TET2	chr4	106157296	-	GGGAGATGTGAACTCTGGGA (SEQ ID Nº: 50)
sgTET2_6	TET2	chr4	106155148	-	GGAGGTGATGGTATCAGGAA (SEQ ID Nº: 51)
sgTET2_7	TET2	chr4	106155166	-	GGTTCTGTCTGGCAAATGGG (SEQ ID Nº: 52)
sgTET2_8	TET2	chr4	106155217	-	GGATGAGCTCTCTCAGGCAG (SEQ ID Nº: 53)
sgTET2_9	TET2	chr4	106155403	-	TGAAGGAGCCCAGAGAGAGA (SEQ ID Nº: 65)
sgTET2_10	TET2	chr4	106155478	+	GTAAGCCAAGAAAGAAATCC (SEQ ID Nº: 66)

[0293] Exemplos de sequências de direcionamento de gRNA que são úteis nas várias modalidades da presente invenção para inibir um Tet, por exemplo, Tet2, são proporcionados abaixo na Tabela 3. Em modalidades, um sistema CRISPR/Cas da presente invenção compreende uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência

de direcionamento compreendendo uma sequência listada na Tabela 3. Em modalidades, um sistema CRISPR/Cas da presente invenção compreende uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento que é uma sequência listada na Tabela 3.

Tabela 3

ID	ALVO	REGIÃO-ALVO	FITA	Localização da Sequência Genômica-Alvo (hg38)	Sequência de direcionamento de gRNA	SEQ ID Nº:
54790_1_1	TET2	EXON	+	chr4:105145928-105145948	UGUCGGGUCUUUAAAAAUAC	73
54790_1_3	TET2	EXON	+	chr4:105145945-105145965	UACAGGCCCCUAAAGCACUA	74
54790_1_4	TET2	EXON	+	chr4:105145946-105145966	ACAGGCCCCUAAAGCACUAA	75
54790_1_5	TET2	EXON	+	chr4:105145957-105145977	AAGCACUAAGGGCAUGCCCU	76
54790_1_8	TET2	EXON	+	chr4:105145966-105145986	GGGCAUGCCCUCGGUGAAAC	77
54790_1_10	TET2	EXON	+	chr4:105145967-105145987	GGCAUGCCCUCGGUGAAACA	78
54790_1_12	TET2	EXON	+	chr4:105145968-105145988	GCAUGCCCUCGGUGAAACAG	79
54790_1_20	TET2	EXON	+	chr4:105146006-105146026	UGAGAUUAAAGCGACAGAAA	80
54790_1_23	TET2	EXON	+	chr4:105146007-105146027	GAGAUUAAAGCGACAGAAAA	81
54790_1_25	TET2	EXON	+	chr4:105146012-105146032	UAAAGCGACAGAAAAGGGAA	82
54790_1_30	TET2	EXON	+	chr4:105146021-105146041	AGAAAAGGGAAAGGAGAGCG	83
54790_1_31	TET2	EXON	+	chr4:105146022-105146042	GAAAAGGGAAAGGAGAGCGC	84
54790_1_33	TET2	EXON	+	chr4:105146028-105146048	GGAAAGGAGAGCGCGGGCAA	85
54790_1_35	TET2	EXON	+	chr4:105146029-105146049	GAAAGGAGAGCGCGGGCAAC	86
54790_1_38	TET2	EXON	+	chr4:105146038-105146058	GCGCGGGCAACGGGAUCUAA	87
54790_1_39	TET2	EXON	+	chr4:105146039-105146059	CGCGGGCAACGGGAUCUAAA	88
54790_1_43	TET2	EXON	+	chr4:105146053-105146073	UCUAAAGGGAGAUAGAGACG	89
54790_1_44	TET2	EXON	+	chr4:105146054-105146074	CUAAAGGGAGAUAGAGACGC	90

54790_1_47	TET2	EXON	+	chr4:105146063-105146083	GAUAGAGACGCGGGCCUCUG	91
54790_1_48	TET2	EXON	+	chr4:105146064-105146084	AUAGAGACGCGGGCCUCUGA	92
54790_1_49	TET2	EXON	+	chr4:105146069-105146089	GACGCGGGCCUCUGAGGGUA	93
54790_1_51	TET2	EXON	+	chr4:105146072-105146092	GCGGGCCUCUGAGGGUAAGG	94
54790_1_52	TET2	EXON	+	chr4:105146073-105146093	CGGGCCUCUGAGGGUAAGGU	95
54790_1_54	TET2	EXON	+	chr4:105146082-105146102	GAGGGUAAGGUGGGCGCAAG	96
54790_1_61	TET2	EXON	-	chr4:105145954-105145974	GCAUGCCCUUAGUGCUUUAG	97
54790_1_62	TET2	EXON	-	chr4:105145955-105145975	GGCAUGCCCUUAGUGCUUUA	98
54790_1_64	TET2	EXON	-	chr4:105145956-105145976	GGGCAUGCCCUUAGUGCUUU	99
54790_1_68	TET2	EXON	-	chr4:105145976-105145996	GCGCUCCCCUGUUUCACCGA	100
54790_1_69	TET2	EXON	-	chr4:105145977-105145997	AGCGCUCCCCUGUUUCACCG	101
54790_1_87	TET2	EXON	-	chr4:105146080-105146100	UGCGCCCACCUUACCCUCAG	102
54790_2_1	TET2	EXON	+	chr4:105146669-105146689	AGAGCCGGCGGUAGCGGCAG	103
54790_2_2	TET2	EXON	+	chr4:105146675-105146695	GGCGGUAGCGGCAGUGGCAG	104
54790_2_6	TET2	EXON	+	chr4:105146686-105146706	CAGUGGCAGCGGCGAGAGCU	105
54790_2_7	TET2	EXON	+	chr4:105146687-105146707	AGUGGCAGCGGCGAGAGCUU	106
54790_2_8	TET2	EXON	+	chr4:105146690-105146710	GGCAGCGGCGAGAGCUUGGG	107
54790_2_12	TET2	EXON	+	chr4:105146725-105146745	CCUCGCGAGCGCCGCGCGCC	108
54790_2_13	TET2	EXON	+	chr4:105146726-105146746	CUCGCGAGCGCCGCGCGCCC	109
54790_2_14	TET2	EXON	+	chr4:105146761-105146781	GCAAGUCACGUCCGCCCCCU	110
54790_2_15	TET2	EXON	+	chr4:105146766-105146786	UCACGUCCGCCCCCUCGGCG	111
54790_2_17	TET2	EXON	+	chr4:105146783-105146803	GCGCGGCCGCCCCGAGACGC	112
54790_2_24	TET2	EXON	+	chr4:105146836-105146856	CUGCCUUAUGAAUAUUGAUG	113

54790_2_25	TET2	EXON	+	chr4:105146839-105146859	CCUUAUGAAUAUUGAUGCGG	114
54790_2_27	TET2	EXON	+	chr4:105146844-105146864	UGAAUAUUGAUGCGGAGGCU	115
54790_2_34	TET2	EXON	+	chr4:105146868-105146888	UGCUUUCGUAGAGAAGCAGA	116
54790_2_37	TET2	EXON	+	chr4:105146879-105146899	AGAAGCAGAAGGAAGCAAGA	117
54790_2_39	TET2	EXON	+	chr4:105146891-105146911	AAGCAAGAUGGCUGCCCUUU	118
54790_2_44	TET2	EXON	+	chr4:105146905-105146925	CCCUUUAGGAUUUGUUAGAA	119
54790_2_51	TET2	EXON	+	chr4:105146926-105146946	GGAGACCCGACUGCAACUGC	120
54790_2_52	TET2	EXON	+	chr4:105146938-105146958	GCAACUGCUGGAUUGCUGCA	121
54790_2_56	TET2	EXON	+	chr4:105146944-105146964	GCUGGAUUGCUGCAAGGCUG	122
54790_2_57	TET2	EXON	+	chr4:105146945-105146965	CUGGAUUGCUGCAAGGCUGA	123
54790_2_62	TET2	EXON	+	chr4:105146957-105146977	AAGGCUGAGGGACGAGAACG	124
54790_2_64	TET2	EXON	-	chr4:105146676-105146696	GCUGCCACUGCCGCUACCGC	125
54790_2_65	TET2	EXON	-	chr4:105146716-105146736	CGCUCGCGAGGAGGCGGCGG	126
54790_2_66	TET2	EXON	-	chr4:105146719-105146739	CGGCGCUCGCGAGGAGGCGG	127
54790_2_67	TET2	EXON	-	chr4:105146722-105146742	GCGCGGCGCUCGCGAGGAGG	128
54790_2_68	TET2	EXON	-	chr4:105146725-105146745	GGCGCGCGGCGCUCGCGAGG	129
54790_2_69	TET2	EXON	-	chr4:105146728-105146748	CCGGGCGCGCGGCGCUCGCG	130
54790_2_74	TET2	EXON	-	chr4:105146739-105146759	GCGAGCGGGACCCGGGCGCG	131
54790_2_75	TET2	EXON	-	chr4:105146746-105146766	CUUGCAUGCGAGCGGGACCC	132
54790_2_76	TET2	EXON	-	chr4:105146747-105146767	ACUUGCAUGCGAGCGGGACC	133
54790_2_78	TET2	EXON	-	chr4:105146753-105146773	GACGUGACUUGCAUGCGAGC	134
54790_2_79	TET2	EXON	-	chr4:105146754-105146774	GGACGUGACUUGCAUGCGAG	135
54790_2_83	TET2	EXON	-	chr4:105146775-105146795	GGGCGGCCGCGCCGAGGGGG	136

54790_2_85	TET2	EXON	-	chr4:105146778-105146798	UCGGGGCGGCCGCGCCGAGG	137
54790_2_86	TET2	EXON	-	chr4:105146779-105146799	CUCGGGGCGGCCGCGCCGAG	138
54790_2_88	TET2	EXON	-	chr4:105146780-105146800	UCUCGGGGCGGCCGCGCCGA	139
54790_2_89	TET2	EXON	-	chr4:105146781-105146801	GUCUCGGGGCGGCCGCGCCG	140
54790_2_93	TET2	EXON	-	chr4:105146792-105146812	GCGGGGCCGGCGUCUCGGGG	141
54790_2_94	TET2	EXON	-	chr4:105146795-105146815	UCAGCGGGGCCGGCGUCUCG	142
54790_2_95	TET2	EXON	-	chr4:105146796-105146816	CUCAGCGGGGCCGGCGUCUC	143
54790_2_97	TET2	EXON	-	chr4:105146797-105146817	ACUCAGCGGGGCCGGCGUCU	144
54790_2_100	TET2	EXON	-	chr4:105146805-105146825	UUCUCAUCACUCAGCGGGGC	145
54790_2_101	TET2	EXON	-	chr4:105146809-105146829	UCUGUUCUCAUCACUCAGCG	146
54790_2_103	TET2	EXON	-	chr4:105146810-105146830	GUCUGUUCUCAUCACUCAGC	147
54790_2_106	TET2	EXON	-	chr4:105146811-105146831	CGUCUGUUCUCAUCACUCAG	148
54790_2_109	TET2	EXON	-	chr4:105146842-105146862	CCUCCGCAUCAAUAUUCAUA	149
54790_2_117	TET2	EXON	-	chr4:105146908-105146928	CCUUUCUAACAAAUCCUAAA	150
54790_2_118	TET2	EXON	-	chr4:105146909-105146929	UCCUUUCUAACAAAUCCUAA	151
54790_2_122	TET2	EXON	-	chr4:105146934-105146954	GCAAUCCAGCAGUUGCAGUC	152
54790_2_123	TET2	EXON	-	chr4:105146935-105146955	AGCAAUCCAGCAGUUGCAGU	153
54790_3_1	TET2	EXON	+	chr4:105190341-105190361	AAACUCUGUCUUCUCUAGGC	154
54790_3_13	TET2	EXON	+	chr4:105190411-105190431	UCCUGUUGAGUUACAACGCU	155
54790_3_16	TET2	EXON	+	chr4:105190418-105190438	GAGUUACAACGCUUGGAAGC	156
54790_3_19	TET2	EXON	+	chr4:105190424-105190444	CAACGCUUGGAAGCAGGAGA	157
54790_3_21	TET2	EXON	+	chr4:105190425-105190445	AACGCUUGGAAGCAGGAGAU	158
54790_3_24	TET2	EXON	+	chr4:105190444-105190464	UGGGCUCAGCAGCAGCCAAU	159

54790_3_26	TET2	EXON	+	chr4:105190456-105190476	CAGCCAAUAGGACAUGAUCC	160
54790_3_30	TET2	EXON	+	chr4:105190469-105190489	AUGAUCCAGGAAGAGCAGUA	161
54790_3_32	TET2	EXON	+	chr4:105190470-105190490	UGAUCCAGGAAGAGCAGUAA	162
54790_3_34	TET2	EXON	+	chr4:105190483-105190503	GCAGUAAGGGACUGAGCUGC	163
54790_3_37	TET2	EXON	+	chr4:105190494-105190514	CUGAGCUGCUGGUAAGACAG	164
54790_3_46	TET2	EXON	-	chr4:105190385-105190405	GCAAGUAAACAAUCUUGAGA	165
54790_3_47	TET2	EXON	-	chr4:105190386-105190406	GGCAAGUAAACAAUCUUGAG	166
54790_3_52	TET2	EXON	-	chr4:105190407-105190427	UUGUAACUCAACAGGAGCAA	167
54790_3_55	TET2	EXON	-	chr4:105190415-105190435	UCCAAGCGUUGUAACUCAAC	168
54790_3_60	TET2	EXON	-	chr4:105190462-105190482	CUUCCUGGAUCAUGUCCUAU	169
54790_3_62	TET2	EXON	-	chr4:105190477-105190497	CAGUCCCUUACUGCUCUUCC	170
54790_4_7	TET2	EXON	+	chr4:105233887-105233907	GCUCUUUAGAAUUCAACUAG	171
54790_4_8	TET2	EXON	+	chr4:105233888-105233908	CUCUUUAGAAUUCAACUAGA	172
54790_4_12	TET2	EXON	+	chr4:105233899-105233919	UCAACUAGAGGGCAGCCUUG	173
54790_4_14	TET2	EXON	+	chr4:105233903-105233923	CUAGAGGGCAGCCUUGUGGA	174
54790_4_19	TET2	EXON	+	chr4:105233923-105233943	UGGCCCCGAAGCAAGCCUGA	175
54790_4_21	TET2	EXON	+	chr4:105233929-105233949	CGAAGCAAGCCUGAUGGAAC	176
54790_4_25	TET2	EXON	+	chr4:105233950-105233970	GGAUAGAACCAACCAUGUUG	177
54790_4_26	TET2	EXON	+	chr4:105233951-105233971	GAUAGAACCAACCAUGUUGA	178
54790_4_30	TET2	EXON	+	chr4:105234010-105234030	CAUUUGCCAGACAGAACCUC	179
54790_4_37	TET2	EXON	+	chr4:105234029-105234049	CUGGCUACAAAGCUCCAGAA	180
54790_4_44	TET2	EXON	+	chr4:105234068-105234088	AGAGCUCAUCCAGAAGUAAA	181
54790_4_45	TET2	EXON	+	chr4:105234081-105234101	AAGUAAAUGGAGACACCAAG	182

54790_4_47	TET2	EXON	+	chr4:105234104-105234124	CACUCUUUCAAAAGUUAUUA	183
54790_4_54	TET2	EXON	+	chr4:105234121-105234141	UUAUGGAAUACCCUGUAUGA	184
54790_4_57	TET2	EXON	+	chr4:105234122-105234142	UAUGGAAUACCCUGUAUGAA	185
54790_4_66	TET2	EXON	+	chr4:105234170-105234190	GACUUUACACAAGAAAGUAG	186
54790_4_67	TET2	EXON	+	chr4:105234171-105234191	ACUUUACACAAGAAAGUAGA	187
54790_4_72	TET2	EXON	+	chr4:105234194-105234214	UAUUCCAAGUGUUUGCAAAA	188
54790_4_74	TET2	EXON	+	chr4:105234197-105234217	UCCAAGUGUUUGCAAAAUGG	189
54790_4_81	TET2	EXON	+	chr4:105234233-105234253	GUUAGUGAACCUUCUCUCUC	190
54790_4_82	TET2	EXON	+	chr4:105234234-105234254	UUAGUGAACCUUCUCUCUCU	191
54790_4_89	TET2	EXON	+	chr4:105234271-105234291	GAAAUUGAAACAAGACCAAA	192
54790_4_93	TET2	EXON	+	chr4:105234278-105234298	AAACAAGACCAAAAGGCUAA	193
54790_4_97	TET2	EXON	+	chr4:105234296-105234316	AAUGGAGAAAGACGUAACUU	194
54790_4_99	TET2	EXON	+	chr4:105234297-105234317	AUGGAGAAAGACGUAACUUC	195
54790_4_100	TET2	EXON	+	chr4:105234298-105234318	UGGAGAAAGACGUAACUUCG	196
54790_4_106	TET2	EXON	+	chr4:105234320-105234340	GUAAGCCAAGAAAGAAAUCC	197
54790_4_123	TET2	EXON	+	chr4:105234437-105234457	UUUUCAACACAUAACUGCAG	198
54790_4_124	TET2	EXON	+	chr4:105234438-105234458	UUUCAACACAUAACUGCAGU	199
54790_4_134	TET2	EXON	+	chr4:105234475-105234495	GCUUCAGAUUCUGAAUGAGC	200
54790_4_138	TET2	EXON	+	chr4:105234478-105234498	UCAGAUUCUGAAUGAGCAGG	201
54790_4_140	TET2	EXON	+	chr4:105234479-105234499	CAGAUUCUGAAUGAGCAGGA	202
54790_4_141	TET2	EXON	+	chr4:105234480-105234500	AGAUUCUGAAUGAGCAGGAG	203
54790_4_147	TET2	EXON	+	chr4:105234529-105234549	CAUUGUAUUACUUAAAAACA	204
54790_4_151	TET2	EXON	+	chr4:105234548-105234568	AAGGCAGUGCUAAUGCCUAA	205

54790_4_153	TET2	EXON	+	chr4:105234574-105234594	UACAGUUUCUGCCUCUUCCG	206
54790_4_157	TET2	EXON	+	chr4:105234587-105234607	UCUUCCGUGGAACACACACA	207
54790_4_161	TET2	EXON	+	chr4:105234598-105234618	ACACACACAUGGUGAACUCC	208
54790_4_163	TET2	EXON	+	chr4:105234643-105234663	UCCAGAUUGUGUUUCCAUUG	209
54790_4_171	TET2	EXON	+	chr4:105234685-105234705	CAUAAAUGCCAUUAACAGUC	210
54790_4_177	TET2	EXON	+	chr4:105234734-105234754	ACUCACCCAUCGCAUACCUC	211
54790_4_178	TET2	EXON	+	chr4:105234735-105234755	CUCACCCAUCGCAUACCUCA	212
54790_4_181	TET2	EXON	+	chr4:105234793-105234813	GCCUCCAAAGCCAGCUGCAG	213
54790_4_184	TET2	EXON	+	chr4:105234802-105234822	GCCAGCUGCAGUGGUGAGUG	214
54790_4_200	TET2	EXON	+	chr4:105234943-105234963	UCCUGCAGAAAAUAACAUCC	215
54790_4_201	TET2	EXON	+	chr4:105234944-105234964	CCUGCAGAAAAUAACAUCCA	216
54790_4_203	TET2	EXON	+	chr4:105234965-105234985	GGAACCACAAAGCUAGCGUC	217
54790_4_207	TET2	EXON	+	chr4:105234983-105235003	UCUGGUGAAGAAUUCUGUUC	218
54790_4_211	TET2	EXON	+	chr4:105235010-105235030	AGCAGCAAUUUGCAAGCUCC	219
54790_4_212	TET2	EXON	+	chr4:105235013-105235033	AGCAAUUUGCAAGCUCCUGG	220
54790_4_216	TET2	EXON	+	chr4:105235026-105235046	CUCCUGGUGGCAGCUCUGAA	221
54790_4_219	TET2	EXON	+	chr4:105235052-105235072	UUAAAACAAAAUGAAAUGAA	222
54790_4_225	TET2	EXON	+	chr4:105235087-105235107	GCAAAGCUCAGUGUUCACUA	223
54790_4_235	TET2	EXON	+	chr4:105235162-105235182	UCCCCCUCCUCCUCUUCCAC	224
54790_4_240	TET2	EXON	+	chr4:105235184-105235204	GUUCCUCAGCUUCCUUCAGA	225
54790_4_245	TET2	EXON	+	chr4:105235202-105235222	GAAGGAAAAAGCACUCUGAA	226
54790_4_247	TET2	EXON	+	chr4:105235205-105235225	GGAAAAAGCACUCUGAAUGG	227
54790_4_256	TET2	EXON	+	chr4:105235260-105235280	AAAGUAACACAACACUUUUA	228

54790_4_258	TET2	EXON	+	chr4:105235261-105235281	AAGUAACACAACACUUUUAA	229
54790_4_262	TET2	EXON	+	chr4:105235276-105235296	UUUAAGGGAAGUGAAAAUAG	230
54790_4_263	TET2	EXON	+	chr4:105235277-105235297	UUAAGGGAAGUGAAAAUAGA	231
54790_4_268	TET2	EXON	+	chr4:105235288-105235308	GAAAAUAGAGGGUAAACCUG	232
54790_4_272	TET2	EXON	+	chr4:105235356-105235376	CUUCUCCGAUGCUUUCUGAA	233
54790_4_280	TET2	EXON	+	chr4:105235380-105235400	CUCAGAAUAAUUGUGUGAAC	234
54790_4_284	TET2	EXON	+	chr4:105235400-105235420	AGGAAUGACAUACAGACUGC	235
54790_4_286	TET2	EXON	+	chr4:105235401-105235421	GGAAUGACAUACAGACUGCA	236
54790_4_294	TET2	EXON	+	chr4:105235478-105235498	AAGCAUAACCCACCAAUUUU	237
54790_4_297	TET2	EXON	+	chr4:105235487-105235507	CCACCAAUUUUUGGUAGCAG	238
54790_4_302	TET2	EXON	+	chr4:105235498-105235518	UGGUAGCAGUGGAGAGCUAC	239
54790_4_313	TET2	EXON	+	chr4:105235546-105235566	CAAAGAGCAAGAGAUUCUGA	240
54790_4_314	TET2	EXON	+	chr4:105235547-105235567	AAAGAGCAAGAGAUUCUGAA	241
54790_4_317	TET2	EXON	+	chr4:105235558-105235578	GAUUCUGAAGGGUCGAGACA	242
54790_4_324	TET2	EXON	+	chr4:105235607-105235627	ACACAGCACUAUCUGAAACC	243
54790_4_326	TET2	EXON	+	chr4:105235611-105235631	AGCACUAUCUGAAACCAGGA	244
54790_4_329	TET2	EXON	+	chr4:105235624-105235644	ACCAGGAUGGAUUGAAUUGA	245
54790_4_333	TET2	EXON	+	chr4:105235645-105235665	GGCCCCUCGUUUUCACCAAG	246
54790_4_339	TET2	EXON	+	chr4:105235669-105235689	AUCCCAUCUAAAACGUAAUG	247
54790_4_343	TET2	EXON	+	chr4:105235739-105235759	AUGACCUCCAAACAAUACAC	248
54790_4_347	TET2	EXON	+	chr4:105235757-105235777	ACUGGAAAUUCCAACAUGCC	249
54790_4_349	TET2	EXON	+	chr4:105235758-105235778	CUGGAAAUUCCAACAUGCCU	250
54790_4_351	TET2	EXON	+	chr4:105235759-105235779	UGGAAAUUCCAACAUGCCUG	251

54790_4_352	TET2	EXON	+	chr4:105235760-105235780	GGAAAUUCCAACAUGCCUGG	252
54790_4_353	TET2	EXON	+	chr4:105235761-105235781	GAAAUUCCAACAUGCCUGGG	253
54790_4_355	TET2	EXON	+	chr4:105235770-105235790	ACAUGCCUGGGGGGCUCCCA	254
54790_4_360	TET2	EXON	+	chr4:105235801-105235821	CACCCAGAAAACAACACAGC	255
54790_4_365	TET2	EXON	+	chr4:105235841-105235861	UACCAAGUUGAAAUGAAUCA	256
54790_4_366	TET2	EXON	+	chr4:105235842-105235862	ACCAAGUUGAAAUGAAUCAA	257
54790_4_368	TET2	EXON	+	chr4:105235853-105235873	AUGAAUCAAGGGCAGUCCCA	258
54790_4_370	TET2	EXON	+	chr4:105235861-105235881	AGGGCAGUCCCAAGGUACAG	259
54790_4_371	TET2	EXON	+	chr4:105235897-105235917	GUUCCAAAAACCCUCACACC	260
54790_4_376	TET2	EXON	+	chr4:105235952-105235972	GCUCAUGUGCAGUCACUGUG	261
54790_4_388	TET2	EXON	+	chr4:105236038-105236058	GAAACAGCACUUGAAUCAAC	262
54790_4_399	TET2	EXON	+	chr4:105236098-105236118	GCAACAUAAGCCUCAUAAAC	263
54790_4_407	TET2	EXON	+	chr4:105236182-105236202	AUUACAAAUAAAGAAUAAAG	264
54790_4_416	TET2	EXON	+	chr4:105236237-105236257	AACAAUGAUCAGCAAAGAGA	265
54790_4_417	TET2	EXON	+	chr4:105236249-105236269	CAAAGAGAAGGAUCAUUCUU	266
54790_4_419	TET2	EXON	+	chr4:105236263-105236283	AUUCUUUGGCCAGACUAAAG	267
54790_4_426	TET2	EXON	+	chr4:105236279-105236299	AAAGUGGAAGAAUGUUUUCA	268
54790_4_435	TET2	EXON	+	chr4:105236332-105236352	CGAGACUCAUAAUGUCCAAA	269
54790_4_438	TET2	EXON	+	chr4:105236333-105236353	GAGACUCAUAAUGUCCAAAU	270
54790_4_440	TET2	EXON	+	chr4:105236338-105236358	UCAUAAUGUCCAAAUGGGAC	271
54790_4_444	TET2	EXON	+	chr4:105236341-105236361	UAAUGUCCAAAUGGGACUGG	272
54790_4_452	TET2	EXON	+	chr4:105236413-105236433	AUCAAGUGCAUGCAAAAUAC	273
54790_4_466	TET2	EXON	+	chr4:105236486-105236506	ACACAUCCUGAACUUUUUGC	274

54790_4_475	TET2	EXON	+	chr4:105236562-105236582	CAAAGCAAGAUCUUCUUCAC	275
54790_4_479	TET2	EXON	+	chr4:105236578-105236598	UCACAGGUGCUUUCAAGAAC	276
54790_4_486	TET2	EXON	+	chr4:105236611-105236631	ACAACAAGCUUCAGUUCUAC	277
54790_4_488	TET2	EXON	+	chr4:105236612-105236632	CAACAAGCUUCAGUUCUACA	278
54790_4_493	TET2	EXON	+	chr4:105236642-105236662	AAUAGAAACCAAGAUAUGUC	279
54790_4_494	TET2	EXON	+	chr4:105236673-105236693	CUGCGCAACUUGCUCAGCAA	280
54790_4_498	TET2	EXON	+	chr4:105236719-105236739	UGUUUUUCCUGUGCCUGACC	281
54790_4_501	TET2	EXON	+	chr4:105236720-105236740	GUUUUUCCUGUGCCUGACCA	282
54790_4_503	TET2	EXON	+	chr4:105236723-105236743	UUUCCUGUGCCUGACCAGGG	283
54790_4_511	TET2	EXON	+	chr4:105236752-105236772	CACUCAGACCCCUCCCCAGA	284
54790_4_512	TET2	EXON	+	chr4:105236778-105236798	CUCAAAAGCAUGCUGCUCUA	285
54790_4_513	TET2	EXON	+	chr4:105236781-105236801	AAAAGCAUGCUGCUCUAAGG	286
54790_4_518	TET2	EXON	+	chr4:105236856-105236876	CUUGCCAUAGUCAGAUGCAC	287
54790_4_520	TET2	EXON	+	chr4:105236866-105236886	UCAGAUGCACAGGCCAAUUA	288
54790_4_522	TET2	EXON	+	chr4:105236869-105236889	GAUGCACAGGCCAAUUAAGG	289
54790_4_525	TET2	EXON	+	chr4:105236876-105236896	AGGCCAAUUAAGGUGGAACC	290
54790_4_531	TET2	EXON	+	chr4:105236928-105236948	CACCACCAGAAAACAAAACA	291
54790_4_532	TET2	EXON	+	chr4:105236935-105236955	AGAAAACAAAACAUGGAAAA	292
54790_4_540	TET2	EXON	+	chr4:105237004-105237024	AAAGAGCAUCAUUGAGACCA	293
54790_4_545	TET2	EXON	+	chr4:105237052-105237072	CAAGUCGUUAUUUGACCAUA	294
54790_4_553	TET2	EXON	+	chr4:105237098-105237118	CAAGUAAAAGUUGAAAUGUC	295
54790_4_554	TET2	EXON	+	chr4:105237099-105237119	AAGUAAAAGUUGAAAUGUCA	296
54790_4_578	TET2	EXON	+	chr4:105237280-105237300	UACUCCUAUAAAAAAUUUAU	297

54790_4_582	TET2	EXON	+	chr4:105237329-105237349	UUCCCAUCUUGCAGAUGUGU	298
54790_4_589	TET2	EXON	+	chr4:105237359-105237379	CAGAAAUGUACUGAGACACA	299
54790_4_596	TET2	EXON	+	chr4:105237397-105237417	AGCAAAUUUAUCUUCAGAUA	300
54790_4_597	TET2	EXON	+	chr4:105237398-105237418	GCAAAUUUAUCUUCAGAUAU	301
54790_4_606	TET2	EXON	+	chr4:105237430-105237450	CUUUUUUUAAAUCUUGAGUC	302
54790_4_614	TET2	EXON	+	chr4:105237446-105237466	AGUCUGGCAGCAAUUUGUAA	303
54790_4_657	TET2	EXON	+	chr4:105237650-105237670	GCUCUUUGUAUAUUAUCUCC	304
54790_4_662	TET2	EXON	+	chr4:105237663-105237683	UAUCUCCUGGAGAGACAGCU	305
54790_4_668	TET2	EXON	+	chr4:105237708-105237728	AAUGAGAAAAUAACGACCAU	306
54790_4_670	TET2	EXON	+	chr4:105237748-105237768	UUUAAAUAUUUUUUAAUUCA	307
54790_4_679	TET2	EXON	+	chr4:105237778-105237798	UAUUAGUUUCACAAGAUUUC	308
54790_4_682	TET2	EXON	+	chr4:105237786-105237806	UCACAAGAUUUCUGGCUAAU	309
54790_4_686	TET2	EXON	+	chr4:105237787-105237807	CACAAGAUUUCUGGCUAAUA	310
54790_4_693	TET2	EXON	+	chr4:105237817-105237837	UAUCUUCAGUCUUCAUGAGU	311
54790_4_695	TET2	EXON	+	chr4:105237818-105237838	AUCUUCAGUCUUCAUGAGUU	312
54790_4_697	TET2	EXON	+	chr4:105237819-105237839	UCUUCAGUCUUCAUGAGUUG	313
54790_4_700	TET2	EXON	+	chr4:105237820-105237840	CUUCAGUCUUCAUGAGUUGG	314
54790_4_709	TET2	EXON	+	chr4:105237882-105237902	CUUUUCUCCAUUUAUACAUU	315
54790_4_741	TET2	EXON	+	chr4:105240332-105240352	AAAGCUUUUUGUUAAAAUUC	316
54790_4_746	TET2	EXON	+	chr4:105240344-105240364	UAAAAUUCAGGAUAUGUAAU	317
54790_4_750	TET2	EXON	+	chr4:105240352-105240372	AGGAUAUGUAAUAGGUCUGU	318
54790_4_754	TET2	EXON	+	chr4:105240377-105240397	UAGUGAAAUAUUUUUGCUGA	319
54790_4_760	TET2	EXON	+	chr4:105240395-105240415	GAUGGAUGUAGAUAUAUACG	320

54790_4_770	TET2	EXON	+	chr4:105240478-105240498	AGACAAAUGUUAAAUUAGUG	321
54790_4_780	TET2	EXON	+	chr4:105240541-105240561	GAUACCCCACACUGUGUAGA	322
54790_4_783	TET2	EXON	+	chr4:105240545-105240565	CCCCACACUGUGUAGAAGGA	323
54790_4_785	TET2	EXON	+	chr4:105240548-105240568	CACACUGUGUAGAAGGAUGG	324
54790_4_787	TET2	EXON	+	chr4:105240549-105240569	ACACUGUGUAGAAGGAUGGA	325
54790_4_790	TET2	EXON	+	chr4:105240552-105240572	CUGUGUAGAAGGAUGGAGGG	326
54790_4_791	TET2	EXON	+	chr4:105240579-105240599	CUACUGUCCCUCUUUGCGUG	327
54790_4_795	TET2	EXON	+	chr4:105240599-105240619	UGGUUAUUAAGUUGCCUCAC	328
54790_4_796	TET2	EXON	+	chr4:105240600-105240620	GGUUAUUAAGUUGCCUCACU	329
54790_4_800	TET2	EXON	+	chr4:105240634-105240654	CACAUCUCAUAGAUAAUAUU	330
54790_4_807	TET2	EXON	+	chr4:105240703-105240723	UCCCACUUUUCCAUCUUUGU	331
54790_4_818	TET2	EXON	+	chr4:105240740-105240760	UUCUUUUUGCCUGACUCUCC	332
54790_4_829	TET2	EXON	+	chr4:105240784-105240804	UUCUAAAGUACAUACUAAUA	333
54790_4_830	TET2	EXON	+	chr4:105240785-105240805	UCUAAAGUACAUACUAAUAU	334
54790_4_833	TET2	EXON	+	chr4:105240790-105240810	AGUACAUACUAAUAUGGGUC	335
54790_4_841	TET2	EXON	+	chr4:105240833-105240853	AAACAGCAAUUAAAUGUUAU	336
54790_4_842	TET2	EXON	+	chr4:105240834-105240854	AACAGCAAUUAAAUGUUAUA	337
54790_4_845	TET2	EXON	+	chr4:105240841-105240861	AUUAAAUGUUAUAGGGAAGU	338
54790_4_851	TET2	EXON	+	chr4:105240851-105240871	AUAGGGAAGUAGGAAGAAAA	339
54790_4_853	TET2	EXON	+	chr4:105240852-105240872	UAGGGAAGUAGGAAGAAAAA	340
54790_4_855	TET2	EXON	+	chr4:105240853-105240873	AGGGAAGUAGGAAGAAAAAG	341
54790_4_858	TET2	EXON	+	chr4:105240885-105240905	CAAUAAACCAAGCAAUAUUC	342
54790_4_861	TET2	EXON	+	chr4:105240886-105240906	AAUAAACCAAGCAAUAUUCU	343

54790_4_862	TET2	EXON	+	chr4:105240887-105240907	AUAAACCAAGCAAUAUUCUG	344
54790_4_863	TET2	EXON	+	chr4:105240888-105240908	UAAACCAAGCAAUAUUCUGG	345
54790_4_865	TET2	EXON	+	chr4:105240891-105240911	ACCAAGCAAUAUUCUGGGGG	346
54790_4_867	TET2	EXON	+	chr4:105240892-105240912	CCAAGCAAUAUUCUGGGGGU	347
54790_4_870	TET2	EXON	+	chr4:105240902-105240922	UUCUGGGGGUGGGAUAGAGC	348
54790_4_880	TET2	EXON	+	chr4:105240940-105240960	UCUUUUAAAAUCCAAGUAAU	349
54790_4_881	TET2	EXON	+	chr4:105240944-105240964	UUAAAAUCCAAGUAAUAGGU	350
54790_4_891	TET2	EXON	+	chr4:105240991-105241011	UUUUUUCCAGCUCAAAAAAU	351
54790_4_905	TET2	EXON	+	chr4:105241063-105241083	UUUGUUUAGUUUCAUUUAUU	352
54790_4_929	TET2	EXON	+	chr4:105241146-105241166	UGUACAUAUACUUAAUUAUG	353
54790_4_945	TET2	EXON	+	chr4:105241237-105241257	UAGAGCCCUUAAUGUGUAGU	354
54790_4_949	TET2	EXON	+	chr4:105241238-105241258	AGAGCCCUUAAUGUGUAGUU	355
54790_4_951	TET2	EXON	+	chr4:105241239-105241259	GAGCCCUUAAUGUGUAGUUG	356
54790_4_953	TET2	EXON	+	chr4:105241240-105241260	AGCCCUUAAUGUGUAGUUGG	357
54790_4_956	TET2	EXON	+	chr4:105241253-105241273	UAGUUGGGGGUUAAGCUUUG	358
54790_4_962	TET2	EXON	+	chr4:105241283-105241303	CUUUAUAUUUAGUAUAAUUG	359
54790_4_973	TET2	EXON	+	chr4:105241340-105241360	CAAAUUAUUGAAAAAGAUGA	360
54790_4_977	TET2	EXON	+	chr4:105241361-105241381	GGUCCUUUUUAUACCCAUCU	361
54790_4_979	TET2	EXON	+	chr4:105241367-105241387	UUUUAUACCCAUCUAGGAGC	362
54790_4_984	TET2	EXON	+	chr4:105241378-105241398	UCUAGGAGCAGGUCCUAAUG	363
54790_4_990	TET2	EXON	+	chr4:105241399-105241419	GGCAGCUAUUAGAGAAAUCA	364
54790_4_993	TET2	EXON	+	chr4:105241407-105241427	UUAGAGAAAUCAUGGAAGAA	365
54790_4_995	TET2	EXON	+	chr4:105241422-105241442	AAGAAAGGUAAUUAACGCAA	366

54790_4_997	TET2	EXON	+	chr4:105241428-105241448	GGUAAUUAACGCAAAGGCAC	367
54790_4_998	TET2	EXON	+	chr4:105241429-105241449	GUAAUUAACGCAAAGGCACA	368
54790_4_1014	TET2	EXON	+	chr4:105241523-105241543	UAAAUUGAGUAAUUAUUAGU	369
54790_4_1019	TET2	EXON	+	chr4:105241538-105241558	UUAGUAGGCUUAGCUAUUCU	370
54790_4_1020	TET2	EXON	+	chr4:105241539-105241559	UAGUAGGCUUAGCUAUUCUA	371
54790_4_1029	TET2	EXON	+	chr4:105241592-105241612	AGAGAGUCACAAUAUUUGAC	372
54790_4_1032	TET2	EXON	+	chr4:105241612-105241632	AGGACUAAUAGUCUGCUAGC	373
54790_4_1033	TET2	EXON	+	chr4:105241618-105241638	AAUAGUCUGCUAGCUGGCAC	374
54790_4_1035	TET2	EXON	+	chr4:105241636-105241656	ACAGGCUGCCCACUUUGCGA	375
54790_4_1040	TET2	EXON	+	chr4:105241653-105241673	CGAUGGAUGCCAGAAAACCC	376
54790_4_1043	TET2	EXON	+	chr4:105241663-105241683	CAGAAAACCCAGGCAUGAAC	377
54790_4_1045	TET2	EXON	+	chr4:105241669-105241689	ACCCAGGCAUGAACAGGAAU	378
54790_4_1046	TET2	EXON	+	chr4:105241678-105241698	UGAACAGGAAUCGGCCAGCC	379
54790_4_1047	TET2	EXON	+	chr4:105241693-105241713	CAGCCAGGCUGCCAGCCACA	380
54790_4_1048	TET2	EXON	+	chr4:105241699-105241719	GGCUGCCAGCCACAAGGUAC	381
54790_4_1049	TET2	EXON	+	chr4:105241705-105241725	CAGCCACAAGGUACUGGCAC	382
54790_4_1052	TET2	EXON	+	chr4:105241718-105241738	CUGGCACAGGCUCCAACGAG	383
54790_4_1053	TET2	EXON	+	chr4:105241729-105241749	UCCAACGAGAGGUCCCACUC	384
54790_4_1058	TET2	EXON	+	chr4:105241770-105241790	AAGUGUCAAAGCAGAAAGAC	385
54790_4_1059	TET2	EXON	+	chr4:105241780-105241800	GCAGAAAGACUGGUAAAGUG	386
54790_4_1092	TET2	EXON	+	chr4:105241946-105241966	UUUUUUUCGCUAUCAAUCAC	387
54790_4_1109	TET2	EXON	+	chr4:105242012-105242032	UGAGCGAGAUAAUGCAGAGA	388
54790_4_1117	TET2	EXON	+	chr4:105242057-105242077	CUCUGAGCUGUUCUUCUUCU	389

54790_4_1118	TET2	EXON	+	chr4:105242058-105242078	UCUGAGCUGUUCUUCUUCUA	390
54790_4_1123	TET2	EXON	+	chr4:105242076-105242096	UAGGGUGCCUUUUCAUUAAG	391
54790_4_1124	TET2	EXON	+	chr4:105242080-105242100	GUGCCUUUUCAUUAAGAGGU	392
54790_4_1130	TET2	EXON	+	chr4:105242105-105242125	GUAUUAUUAUUAAAGUACUU	393
54790_4_1135	TET2	EXON	+	chr4:105242114-105242134	UUAAAGUACUUAGGAUACAU	394
54790_4_1136	TET2	EXON	+	chr4:105242115-105242135	UAAAGUACUUAGGAUACAUU	395
54790_4_1137	TET2	EXON	+	chr4:105242116-105242136	AAAGUACUUAGGAUACAUUG	396
54790_4_1140	TET2	EXON	+	chr4:105242124-105242144	UAGGAUACAUUGGGGCAGCU	397
54790_4_1154	TET2	EXON	+	chr4:105242210-105242230	UUCACUAAAUAAUCAUCUAG	398
54790_4_1156	TET2	EXON	+	chr4:105242215-105242235	UAAAUAAUCAUCUAGUGGCC	399
54790_4_1162	TET2	EXON	+	chr4:105242287-105242307	UUGUUUUUUAAACAAGCAGU	400
54790_4_1163	TET2	EXON	+	chr4:105242290-105242310	UUUUUUAAACAAGCAGUAGG	401
54790_4_1164	TET2	EXON	+	chr4:105242298-105242318	ACAAGCAGUAGGUGGUGCUU	402
54790_4_1167	TET2	EXON	+	chr4:105242306-105242326	UAGGUGGUGCUUUGGUCAUA	403
54790_4_1169	TET2	EXON	+	chr4:105242307-105242327	AGGUGGUGCUUUGGUCAUAA	404
54790_4_1173	TET2	EXON	+	chr4:105242328-105242348	GGAAGAUAUAGUCUAUUUCU	405
54790_4_1176	TET2	EXON	+	chr4:105242351-105242371	ACUAUUCCAUAUUUUCCAUG	406
54790_4_1178	TET2	EXON	+	chr4:105242355-105242375	UUCCAUAUUUUCCAUGUGGC	407
54790_4_1187	TET2	EXON	+	chr4:105242404-105242424	UCUAAAUUGUGAGACAUUCU	408
54790_4_1193	TET2	EXON	+	chr4:105242407-105242427	AAAUUGUGAGACAUUCUUGG	409
54790_4_1201	TET2	EXON	+	chr4:105242469-105242489	UAAAAUAGCUAAAUUUAGUA	410
54790_4_1205	TET2	EXON	+	chr4:105242470-105242490	AAAAUAGCUAAAUUUAGUAA	411
54790_4_1241	TET2	EXON	+	chr4:105242625-105242645	AUCUGUACAUUUUGAUAUUG	412

54790_4_1244	TET2	EXON	+	chr4:105242635-105242655	UUUGAUAUUGAGGAAAAACA	413
54790_4_1250	TET2	EXON	+	chr4:105242663-105242683	AAACCAUUAUCCAGUUUGCU	414
54790_4_1258	TET2	EXON	+	chr4:105242705-105242725	UAAUAAACCGUUCAUUUCUC	415
54790_4_1259	TET2	EXON	+	chr4:105242711-105242731	ACCGUUCAUUUCUCAGGAUG	416
54790_4_1269	TET2	EXON	-	chr4:105233886-105233906	UAGUUGAAUUCUAAAGAGCA	417
54790_4_1276	TET2	EXON	-	chr4:105233917-105233937	UUGCUUCGGGGCCAUCCACA	418
54790_4_1278	TET2	EXON	-	chr4:105233929-105233949	GUUCCAUCAGGCUUGCUUCG	419
54790_4_1279	TET2	EXON	-	chr4:105233930-105233950	UGUUCCAUCAGGCUUGCUUC	420
54790_4_1281	TET2	EXON	-	chr4:105233931-105233951	CUGUUCCAUCAGGCUUGCUU	421
54790_4_1285	TET2	EXON	-	chr4:105233941-105233961	UGGUUCUAUCCUGUUCCAUC	422
54790_4_1288	TET2	EXON	-	chr4:105233961-105233981	UCUGUUGCCCUCAACAUGGU	423
54790_4_1289	TET2	EXON	-	chr4:105233965-105233985	UUAGUCUGUUGCCCUCAACA	424
54790_4_1290	TET2	EXON	-	chr4:105233990-105234010	GGAGGUGAUGGUAUCAGGAA	425
54790_4_1293	TET2	EXON	-	chr4:105233995-105234015	AAAUGGGAGGUGAUGGUAUC	426
54790_4_1296	TET2	EXON	-	chr4:105234002-105234022	GUCUGGCAAAUGGGAGGUGA	427
54790_4_1297	TET2	EXON	-	chr4:105234008-105234028	GGUUCUGUCUGGCAAAUGGG	428
54790_4_1298	TET2	EXON	-	chr4:105234011-105234031	AGAGGUUCUGUCUGGCAAAU	429
54790_4_1300	TET2	EXON	-	chr4:105234012-105234032	CAGAGGUUCUGUCUGGCAAA	430
54790_4_1305	TET2	EXON	-	chr4:105234019-105234039	UUGUAGCCAGAGGUUCUGUC	431
54790_4_1308	TET2	EXON	-	chr4:105234029-105234049	UUCUGGAGCUUUGUAGCCAG	432
54790_4_1310	TET2	EXON	-	chr4:105234046-105234066	CAGGCAGUGGGCUUCCAUUC	433
54790_4_1314	TET2	EXON	-	chr4:105234058-105234078	GAUGAGCUCUCUCAGGCAGU	434
54790_4_1315	TET2	EXON	-	chr4:105234059-105234079	GGAUGAGCUCUCUCAGGCAG	435

54790_4_1319	TET2	EXON	-	chr4:105234065-105234085	ACUUCUGGAUGAGCUCUCUC	436
54790_4_1322	TET2	EXON	-	chr4:105234080-105234100	UUGGUGUCUCCAUUUACUUC	437
54790_4_1327	TET2	EXON	-	chr4:105234099-105234119	ACUUUUGAAAGAGUGCCACU	438
54790_4_1334	TET2	EXON	-	chr4:105234134-105234154	UUCUGGCUUCCCUUCAUACA	439
54790_4_1335	TET2	EXON	-	chr4:105234135-105234155	AUUCUGGCUUCCCUUCAUAC	440
54790_4_1337	TET2	EXON	-	chr4:105234151-105234171	CAGGACUCACACGACUAUUC	441
54790_4_1341	TET2	EXON	-	chr4:105234170-105234190	CUACUUUCUUGUGUAAAGUC	442
54790_4_1351	TET2	EXON	-	chr4:105234201-105234221	UCCUCCAUUUUGCAAACACU	443
54790_4_1355	TET2	EXON	-	chr4:105234245-105234265	UGAAGGAGCCCAGAGAGAGA	444
54790_4_1367	TET2	EXON	-	chr4:105234262-105234282	GUUUCAAUUUCUUGAUCUGA	445
54790_4_1378	TET2	EXON	-	chr4:105234289-105234309	GUCUUUCUCCAUUAGCCUUU	446
54790_4_1388	TET2	EXON	-	chr4:105234328-105234348	UUUCACCUGGAUUUCUUUCU	447
54790_4_1392	TET2	EXON	-	chr4:105234341-105234361	UUUGGUUGACUGCUUUCACC	448
54790_4_1396	TET2	EXON	-	chr4:105234359-105234379	UCACUCAAAUCGGAGACAUU	449
54790_4_1399	TET2	EXON	-	chr4:105234369-105234389	UUCUUUCUUAUCACUCAAAU	450
54790_4_1410	TET2	EXON	-	chr4:105234408-105234428	AUCUUUAACUGCAUUUUCUU	451
54790_4_1411	TET2	EXON	-	chr4:105234409-105234429	AAUCUUUAACUGCAUUUUCU	452
54790_4_1416	TET2	EXON	-	chr4:105234435-105234455	GCAGUUAUGUGUUGAAAAAC	453
54790_4_1422	TET2	EXON	-	chr4:105234464-105234484	AUCUGAAGCUCUGGAUUUUC	454
54790_4_1423	TET2	EXON	-	chr4:105234473-105234493	UCAUUCAGAAUCUGAAGCUC	455
54790_4_1435	TET2	EXON	-	chr4:105234520-105234540	GUAAUACAAUGUUCUUGUCA	456
54790_4_1441	TET2	EXON	-	chr4:105234566-105234586	GCAGAAACUGUAGCACCAUU	457
54790_4_1444	TET2	EXON	-	chr4:105234588-105234608	AUGUGUGUGUUCCACGGAAG	458

54790_4_1448	TET2	EXON	-	chr4:105234594-105234614	UUCACCAUGUGUGUGUUCCA	459
54790_4_1457	TET2	EXON	-	chr4:105234619-105234639	AUUGAGACAGUGUUUUUUCC	460
54790_4_1461	TET2	EXON	-	chr4:105234647-105234667	ACCGCAAUGGAAACACAAUC	461
54790_4_1466	TET2	EXON	-	chr4:105234660-105234680	UGUGGUUUUCUGCACCGCAA	462
54790_4_1471	TET2	EXON	-	chr4:105234678-105234698	AAUGGCAUUUAUGUGAGAUG	463
54790_4_1474	TET2	EXON	-	chr4:105234696-105234716	AUUAGUAGCCUGACUGUUAA	464
54790_4_1475	TET2	EXON	-	chr4:105234726-105234746	CGAUGGGUGAGUGAUCUCAC	465
54790_4_1479	TET2	EXON	-	chr4:105234742-105234762	UCUGCCCUGAGGUAUGCGAU	466
54790_4_1480	TET2	EXON	-	chr4:105234743-105234763	AUCUGCCCUGAGGUAUGCGA	467
54790_4_1482	TET2	EXON	-	chr4:105234753-105234773	UGCGGAAUUGAUCUGCCCUG	468
54790_4_1485	TET2	EXON	-	chr4:105234771-105234791	CUCAGAGUUAGAGGUCUGUG	469
54790_4_1490	TET2	EXON	-	chr4:105234780-105234800	UGGAGGCAGCUCAGAGUUAG	470
54790_4_1493	TET2	EXON	-	chr4:105234797-105234817	ACCACUGCAGCUGGCUUUGG	471
54790_4_1495	TET2	EXON	-	chr4:105234800-105234820	CUCACCACUGCAGCUGGCUU	472
54790_4_1497	TET2	EXON	-	chr4:105234806-105234826	GCCUCACUCACCACUGCAGC	473
54790_4_1499	TET2	EXON	-	chr4:105234828-105234848	AUCAGCAUCAUCAGCAUCAC	474
54790_4_1505	TET2	EXON	-	chr4:105234855-105234875	UAGCAUUGCAGCUAGUUUAC	475
54790_4_1510	TET2	EXON	-	chr4:105234882-105234902	UUCUGGUUUCUGAAAGGAAC	476
54790_4_1514	TET2	EXON	-	chr4:105234888-105234908	UAGUUGUUCUGGUUUCUGAA	477
54790_4_1521	TET2	EXON	-	chr4:105234899-105234919	UUUUGUUGUUGUAGUUGUUC	478
54790_4_1526	TET2	EXON	-	chr4:105234940-105234960	UGUUAUUUUCUGCAGGAGAU	479
54790_4_1527	TET2	EXON	-	chr4:105234941-105234961	AUGUUAUUUUCUGCAGGAGA	480
54790_4_1531	TET2	EXON	-	chr4:105234947-105234967	CCCUGGAUGUUAUUUUCUGC	481

54790_4_1535	TET2	EXON	-	chr4:105234964-105234984	ACGCUAGCUUUGUGGUUCCC	482
54790_4_1539	TET2	EXON	-	chr4:105234972-105234992	UUCACCAGACGCUAGCUUUG	483
54790_4_1545	TET2	EXON	-	chr4:105235011-105235031	AGGAGCUUGCAAAUUGCUGC	484
54790_4_1551	TET2	EXON	-	chr4:105235031-105235051	UACCGUUCAGAGCUGCCACC	485
54790_4_1569	TET2	EXON	-	chr4:105235116-105235136	ACCACACCAUCACCCAGAAA	486
54790_4_1577	TET2	EXON	-	chr4:105235166-105235186	ACCUGUGGAAGAGGAGGAGG	487
54790_4_1579	TET2	EXON	-	chr4:105235167-105235187	AACCUGUGGAAGAGGAGGAG	488
54790_4_1581	TET2	EXON	-	chr4:105235168-105235188	GAACCUGUGGAAGAGGAGGA	489
54790_4_1582	TET2	EXON	-	chr4:105235169-105235189	GGAACCUGUGGAAGAGGAGG	490
54790_4_1586	TET2	EXON	-	chr4:105235172-105235192	UGAGGAACCUGUGGAAGAGG	491
54790_4_1588	TET2	EXON	-	chr4:105235175-105235195	AGCUGAGGAACCUGUGGAAG	492
54790_4_1593	TET2	EXON	-	chr4:105235181-105235201	GAAGGAAGCUGAGGAACCUG	493
54790_4_1600	TET2	EXON	-	chr4:105235190-105235210	UUUCCUUCUGAAGGAAGCUG	494
54790_4_1606	TET2	EXON	-	chr4:105235199-105235219	AGAGUGCUUUUUCCUUCUGA	495
54790_4_1617	TET2	EXON	-	chr4:105235246-105235266	UACUUUGGUUGGGGUAGUGG	496
54790_4_1618	TET2	EXON	-	chr4:105235249-105235269	UGUUACUUUGGUUGGGGUAG	497
54790_4_1620	TET2	EXON	-	chr4:105235255-105235275	GUGUUGUGUUACUUUGGUUG	498
54790_4_1621	TET2	EXON	-	chr4:105235256-105235276	AGUGUUGUGUUACUUUGGUU	499
54790_4_1623	TET2	EXON	-	chr4:105235257-105235277	AAGUGUUGUGUUACUUUGGU	500
54790_4_1626	TET2	EXON	-	chr4:105235261-105235281	UUAAAAGUGUUGUGUUACUU	501
54790_4_1633	TET2	EXON	-	chr4:105235307-105235327	CUCUGGGAAGGUGGUGCCUC	502
54790_4_1634	TET2	EXON	-	chr4:105235316-105235336	GGAUUAGGACUCUGGGAAGG	503
54790_4_1635	TET2	EXON	-	chr4:105235319-105235339	GAUGGAUUAGGACUCUGGGA	504

54790_4_1636	TET2	EXON	-	chr4:105235323-105235343	UGUAGAUGGAUUAGGACUCU	505
54790_4_1638	TET2	EXON	-	chr4:105235324-105235344	GUGUAGAUGGAUUAGGACUC	506
54790_4_1641	TET2	EXON	-	chr4:105235331-105235351	CAUACAUGUGUAGAUGGAUU	507
54790_4_1643	TET2	EXON	-	chr4:105235337-105235357	GGGCUGCAUACAUGUGUAGA	508
54790_4_1647	TET2	EXON	-	chr4:105235357-105235377	UUUCAGAAAGCAUCGGAGAA	509
54790_4_1648	TET2	EXON	-	chr4:105235358-105235378	CUUUCAGAAAGCAUCGGAGA	510
54790_4_1653	TET2	EXON	-	chr4:105235364-105235384	UGAGGCCUUUCAGAAAGCAU	511
54790_4_1660	TET2	EXON	-	chr4:105235382-105235402	CUGUUCACACAAUUAUUCUG	512
54790_4_1668	TET2	EXON	-	chr4:105235439-105235459	CUUGUUUUCUCAGAACACAA	513
54790_4_1676	TET2	EXON	-	chr4:105235463-105235483	UGCUUGAGGUGUUCUGACAU	514
54790_4_1678	TET2	EXON	-	chr4:105235477-105235497	AAAUUGGUGGGUUAUGCUUG	515
54790_4_1680	TET2	EXON	-	chr4:105235489-105235509	CACUGCUACCAAAAAUUGGU	516
54790_4_1681	TET2	EXON	-	chr4:105235490-105235510	CCACUGCUACCAAAAAUUGG	517
54790_4_1683	TET2	EXON	-	chr4:105235493-105235513	UCUCCACUGCUACCAAAAAU	518
54790_4_1690	TET2	EXON	-	chr4:105235531-105235551	CUUUGUUUCUCAUCAACUGC	519
54790_4_1699	TET2	EXON	-	chr4:105235604-105235624	UUCAGAUAGUGCUGUGUUGG	520
54790_4_1700	TET2	EXON	-	chr4:105235605-105235625	UUUCAGAUAGUGCUGUGUUG	521
54790_4_1702	TET2	EXON	-	chr4:105235606-105235626	GUUUCAGAUAGUGCUGUGUU	522
54790_4_1703	TET2	EXON	-	chr4:105235607-105235627	GGUUUCAGAUAGUGCUGUGU	523
54790_4_1708	TET2	EXON	-	chr4:105235628-105235648	GCCUUCAAUUCAAUCCAUCC	524
54790_4_1711	TET2	EXON	-	chr4:105235650-105235670	UUCCGCUUGGUGAAAACGAG	525
54790_4_1712	TET2	EXON	-	chr4:105235651-105235671	AUUCCGCUUGGUGAAAACGA	526
54790_4_1713	TET2	EXON	-	chr4:105235652-105235672	GAUUCCGCUUGGUGAAAACG	527

54790_4_1722	TET2	EXON	-	chr4:105235663-105235683	GUUUUAGAUGGGAUUCCGCU	528
54790_4_1723	TET2	EXON	-	chr4:105235674-105235694	UGCCUCAUUACGUUUUAGAU	529
54790_4_1724	TET2	EXON	-	chr4:105235675-105235695	AUGCCUCAUUACGUUUUAGA	530
54790_4_1730	TET2	EXON	-	chr4:105235703-105235723	GGUUGAUACUGAAGAAUUGA	531
54790_4_1737	TET2	EXON	-	chr4:105235724-105235744	GUCAUUUGAUUGGAGAGAUU	532
54790_4_1738	TET2	EXON	-	chr4:105235725-105235745	GGUCAUUUGAUUGGAGAGAU	533
54790_4_1743	TET2	EXON	-	chr4:105235734-105235754	UUGUUUGGAGGUCAUUUGAU	534
54790_4_1749	TET2	EXON	-	chr4:105235746-105235766	AUUUCCAGUGUAUUGUUUGG	535
54790_4_1751	TET2	EXON	-	chr4:105235749-105235769	GGAAUUUCCAGUGUAUUGUU	536
54790_4_1756	TET2	EXON	-	chr4:105235770-105235790	UGGGAGCCCCCCAGGCAUGU	537
54790_4_1758	TET2	EXON	-	chr4:105235778-105235798	GCUUGCCUUGGGAGCCCCCC	538
54790_4_1763	TET2	EXON	-	chr4:105235789-105235809	UCUGGGUGUAAGCUUGCCUU	539
54790_4_1766	TET2	EXON	-	chr4:105235790-105235810	UUCUGGGUGUAAGCUUGCCU	540
54790_4_1769	TET2	EXON	-	chr4:105235806-105235826	CUCCAGCUGUGUUGUUUUCU	541
54790_4_1770	TET2	EXON	-	chr4:105235807-105235827	GCUCCAGCUGUGUUGUUUUC	542
54790_4_1779	TET2	EXON	-	chr4:105235846-105235866	GCCCUUGAUUCAUUUCAACU	543
54790_4_1782	TET2	EXON	-	chr4:105235872-105235892	AUGUUGGUCCACUGUACCUU	544
54790_4_1783	TET2	EXON	-	chr4:105235873-105235893	GAUGUUGGUCCACUGUACCU	545
54790_4_1790	TET2	EXON	-	chr4:105235888-105235908	GUUUUUGGAACUGGAGAUGU	546
54790_4_1791	TET2	EXON	-	chr4:105235897-105235917	GGUGUGAGGGUUUUUGGAAC	547
54790_4_1795	TET2	EXON	-	chr4:105235903-105235923	GCACCUGGUGUGAGGGUUUU	548
54790_4_1800	TET2	EXON	-	chr4:105235910-105235930	GAGAAGUGCACCUGGUGUGA	549
54790_4_1801	TET2	EXON	-	chr4:105235911-105235931	GGAGAAGUGCACCUGGUGUG	550

54790_4_1804	TET2	EXON	-	chr4:105235918-105235938	CUGUUUUGGAGAAGUGCACC	551
54790_4_1811	TET2	EXON	-	chr4:105235932-105235952	UUUUGGUAAAUGGUCUGUUU	552
54790_4_1813	TET2	EXON	-	chr4:105235942-105235962	GCACAUGAGCUUUUGGUAAA	553
54790_4_1814	TET2	EXON	-	chr4:105235949-105235969	AGUGACUGCACAUGAGCUUU	554
54790_4_1828	TET2	EXON	-	chr4:105236010-105236030	GGACAUAAGUUUUUCAGUUU	555
54790_4_1829	TET2	EXON	-	chr4:105236011-105236031	GGGACAUAAGUUUUUCAGUU	556
54790_4_1836	TET2	EXON	-	chr4:105236031-105236051	CAAGUGCUGUUUCAACACUG	557
54790_4_1838	TET2	EXON	-	chr4:105236032-105236052	UCAAGUGCUGUUUCAACACU	558
54790_4_1839	TET2	EXON	-	chr4:105236033-105236053	UUCAAGUGCUGUUUCAACAC	559
54790_4_1846	TET2	EXON	-	chr4:105236078-105236098	AAAAGGUGUGAGUUUGAAAA	560
54790_4_1852	TET2	EXON	-	chr4:105236095-105236115	UAUGAGGCUUAUGUUGCAAA	561
54790_4_1856	TET2	EXON	-	chr4:105236111-105236131	GUUUGUGCUGCCUGUUUAUG	562
54790_4_1861	TET2	EXON	-	chr4:105236138-105236158	GGGAGAUGUGAACUCUGGGA	563
54790_4_1862	TET2	EXON	-	chr4:105236142-105236162	UUGAGGGAGAUGUGAACUCU	564
54790_4_1864	TET2	EXON	-	chr4:105236143-105236163	UUUGAGGGAGAUGUGAACUC	565
54790_4_1873	TET2	EXON	-	chr4:105236158-105236178	GCUGCUGUUGCUGGUUUUGA	566
54790_4_1875	TET2	EXON	-	chr4:105236159-105236179	UGCUGCUGUUGCUGGUUUUG	567
54790_4_1880	TET2	EXON	-	chr4:105236167-105236187	GUAAUUUUUGCUGCUGUUGC	568
54790_4_1892	TET2	EXON	-	chr4:105236215-105236235	UUUGGGGGUGAGGAAAAGUC	569
54790_4_1896	TET2	EXON	-	chr4:105236225-105236245	UCAUUGUUGCUUUGGGGGUG	570
54790_4_1901	TET2	EXON	-	chr4:105236230-105236250	GCUGAUCAUUGUUGCUUUGG	571
54790_4_1902	TET2	EXON	-	chr4:105236231-105236251	UGCUGAUCAUUGUUGCUUUG	572
54790_4_1904	TET2	EXON	-	chr4:105236232-105236252	UUGCUGAUCAUUGUUGCUUU	573

54790_4_1906	TET2	EXON	-	chr4:105236233-105236253	UUUGCUGAUCAUUGUUGCUU	574
54790_4_1914	TET2	EXON	-	chr4:105236275-105236295	AACAUUCUUCCACUUUAGUC	575
54790_4_1931	TET2	EXON	-	chr4:105236350-105236370	GUACUUCCUCCAGUCCCAUU	576
54790_4_1941	TET2	EXON	-	chr4:105236394-105236414	UUUCAUGGUCUGACUAUAAG	577
54790_4_1943	TET2	EXON	-	chr4:105236395-105236415	AUUUCAUGGUCUGACUAUAA	578
54790_4_1944	TET2	EXON	-	chr4:105236396-105236416	GAUUUCAUGGUCUGACUAUA	579
54790_4_1950	TET2	EXON	-	chr4:105236409-105236429	UUUGCAUGCACUUGAUUUCA	580
54790_4_1960	TET2	EXON	-	chr4:105236461-105236481	GUUCUUUAUUCUCUGAAACU	581
54790_4_1966	TET2	EXON	-	chr4:105236495-105236515	UUGUUUCCUGCAAAAAGUUC	582
54790_4_1972	TET2	EXON	-	chr4:105236520-105236540	UUGCAUGUGAUGCAAGUUUU	583
54790_4_1973	TET2	EXON	-	chr4:105236521-105236541	AUUGCAUGUGAUGCAAGUUU	584
54790_4_1982	TET2	EXON	-	chr4:105236549-105236569	UGCUUUGGGAUCACAUUAUU	585
54790_4_1984	TET2	EXON	-	chr4:105236563-105236583	UGUGAAGAAGAUCUUGCUUU	586
54790_4_1985	TET2	EXON	-	chr4:105236564-105236584	CUGUGAAGAAGAUCUUGCUU	587
54790_4_2009	TET2	EXON	-	chr4:105236653-105236673	CUUGUUGACCAGACAUAUCU	588
54790_4_2017	TET2	EXON	-	chr4:105236713-105236733	GCACAGGAAAAACAUUUGCA	589
54790_4_2019	TET2	EXON	-	chr4:105236729-105236749	CUUCCUCCCUGGUCAGGCAC	590
54790_4_2022	TET2	EXON	-	chr4:105236735-105236755	GUGUGACUUCCUCCCUGGUC	591
54790_4_2023	TET2	EXON	-	chr4:105236740-105236760	UCUGAGUGUGACUUCCUCCC	592
54790_4_2029	TET2	EXON	-	chr4:105236763-105236783	UUGAGUGUCCUUCUGGGGAG	593
54790_4_2030	TET2	EXON	-	chr4:105236764-105236784	UUUGAGUGUCCUUCUGGGGA	594
54790_4_2031	TET2	EXON	-	chr4:105236765-105236785	UUUUGAGUGUCCUUCUGGGG	595
54790_4_2034	TET2	EXON	-	chr4:105236768-105236788	UGCUUUUGAGUGUCCUUCUG	596

54790_4_2037	TET2	EXON	-	chr4:105236769-105236789	AUGCUUUUGAGUGUCCUUCU	597
54790_4_2039	TET2	EXON	-	chr4:105236770-105236790	CAUGCUUUUGAGUGUCCUUC	598
54790_4_2053	TET2	EXON	-	chr4:105236846-105236866	CUAUGGCAAGACUCAGUUUG	599
54790_4_2054	TET2	EXON	-	chr4:105236847-105236867	ACUAUGGCAAGACUCAGUUU	600
54790_4_2055	TET2	EXON	-	chr4:105236848-105236868	GACUAUGGCAAGACUCAGUU	601
54790_4_2060	TET2	EXON	-	chr4:105236863-105236883	UUGGCCUGUGCAUCUGACUA	602
54790_4_2063	TET2	EXON	-	chr4:105236882-105236902	CAUCCAGGUUCCACCUUAAU	603
54790_4_2064	TET2	EXON	-	chr4:105236897-105236917	CAGGCAUGUGGCUUGCAUCC	604
54790_4_2065	TET2	EXON	-	chr4:105236909-105236929	GCUGUGUGCAUACAGGCAUG	605
54790_4_2069	TET2	EXON	-	chr4:105236916-105236936	UGGUGGUGCUGUGUGCAUAC	606
54790_4_2077	TET2	EXON	-	chr4:105236933-105236953	UUCCAUGUUUUGUUUUCUGG	607
54790_4_2079	TET2	EXON	-	chr4:105236936-105236956	UUUUUCCAUGUUUUGUUUUC	608
54790_4_2085	TET2	EXON	-	chr4:105236978-105236998	ACAUUAUCACAGCUUGCAGG	609
54790_4_2089	TET2	EXON	-	chr4:105236981-105237001	UGCACAUUAUCACAGCUUGC	610
54790_4_2092	TET2	EXON	-	chr4:105237024-105237044	CUGCUUCAGAUGCUGCUCCA	611
54790_4_2096	TET2	EXON	-	chr4:105237054-105237074	CUUAUGGUCAAAUAACGACU	612
54790_4_2099	TET2	EXON	-	chr4:105237070-105237090	AUUUGAGAGUAAGAGCCUUA	613
54790_4_2112	TET2	EXON	-	chr4:105237125-105237145	UGUCUAGUCAAAACUGUGAC	614
54790_4_2114	TET2	EXON	-	chr4:105237150-105237170	GCUAUCAAGUUCUGCAGCAG	615
54790_4_2118	TET2	EXON	-	chr4:105237172-105237192	GCUGCUCUAAAGCUGGGGUG	616
54790_4_2119	TET2	EXON	-	chr4:105237177-105237197	UGUUUGCUGCUCUAAAGCUG	617
54790_4_2120	TET2	EXON	-	chr4:105237178-105237198	UUGUUUGCUGCUCUAAAGCU	618
54790_4_2122	TET2	EXON	-	chr4:105237179-105237199	GUUGUUUGCUGCUCUAAAGC	619

54790_4_2135	TET2	EXON	-	chr4:105237218-105237238	GAAGCAGCUGUUCUUUUGGU	620
54790_4_2137	TET2	EXON	-	chr4:105237222-105237242	AACAGAAGCAGCUGUUCUUU	621
54790_4_2148	TET2	EXON	-	chr4:105237266-105237286	GGAGUAUCUAGUAAUUUGGA	622
54790_4_2153	TET2	EXON	-	chr4:105237270-105237290	UAUAGGAGUAUCUAGUAAUU	623
54790_4_2156	TET2	EXON	-	chr4:105237287-105237307	GUAUCCAAUAAAUUUUUUAU	624
54790_4_2160	TET2	EXON	-	chr4:105237311-105237331	AAAUCAUAUUGAGUCUUGAC	625
54790_4_2163	TET2	EXON	-	chr4:105237334-105237354	UACCUACACAUCUGCAAGAU	626
54790_4_2165	TET2	EXON	-	chr4:105237335-105237355	UUACCUACACAUCUGCAAGA	627
54790_4_2170	TET2	EXON	-	chr4:105237361-105237381	CAUGUGUCUCAGUACAUUUC	628
54790_4_2174	TET2	EXON	-	chr4:105237392-105237412	GAAGAUAAAUUUGCUAAUUC	629
54790_4_2180	TET2	EXON	-	chr4:105237429-105237449	ACUCAAGAUUUAAAAAAAGA	630
54790_4_2197	TET2	EXON	-	chr4:105237510-105237530	CUUUCACAAGACACAAGCAU	631
54790_4_2206	TET2	EXON	-	chr4:105237558-105237578	GCACGAUUAUUUAAUUCUUU	632
54790_4_2213	TET2	EXON	-	chr4:105237593-105237613	UUUUACAGGAUCUGAAGAGA	633
54790_4_2215	TET2	EXON	-	chr4:105237594-105237614	AUUUUACAGGAUCUGAAGAG	634
54790_4_2221	TET2	EXON	-	chr4:105237607-105237627	CAGAUACAUUCAAAUUUUAC	635
54790_4_2225	TET2	EXON	-	chr4:105237645-105237665	UAAUAUACAAAGAGCUAAAU	636
54790_4_2233	TET2	EXON	-	chr4:105237671-105237691	UGCUGCCUAGCUGUCUCUCC	637
54790_4_2247	TET2	EXON	-	chr4:105237727-105237747	UUCGUACAUUAGACUGCCUA	638
54790_4_2270	TET2	EXON	-	chr4:105237874-105237894	AAUGGAGAAAAGGAAACUUU	639
54790_4_2274	TET2	EXON	-	chr4:105237884-105237904	CAAAUGUAUAAAUGGAGAAA	640
54790_4_2277	TET2	EXON	-	chr4:105237892-105237912	CAACAUUCCAAAUGUAUAAA	641
54790_4_2284	TET2	EXON	-	chr4:105237936-105237956	AGAUGAAAUUUUAGAGAAAA	642

54790_4_2287	TET2	EXON	-	chr4:105237937-105237957	AAGAUGAAAUUUUAGAGAAA	643
54790_4_2323	TET2	EXON	-	chr4:105240511-105240531	AGGGAAAACAUGGCACGGGU	644
54790_4_2325	TET2	EXON	-	chr4:105240515-105240535	CAAGAGGGAAAACAUGGCAC	645
54790_4_2326	TET2	EXON	-	chr4:105240516-105240536	GCAAGAGGGAAAACAUGGCA	646
54790_4_2328	TET2	EXON	-	chr4:105240521-105240541	UCAUUGCAAGAGGGAAAACA	647
54790_4_2330	TET2	EXON	-	chr4:105240530-105240550	UGGGGUAUCUCAUUGCAAGA	648
54790_4_2331	TET2	EXON	-	chr4:105240531-105240551	GUGGGGUAUCUCAUUGCAAG	649
54790_4_2336	TET2	EXON	-	chr4:105240548-105240568	CCAUCCUUCUACACAGUGUG	650
54790_4_2337	TET2	EXON	-	chr4:105240549-105240569	UCCAUCCUUCUACACAGUGU	651
54790_4_2338	TET2	EXON	-	chr4:105240550-105240570	CUCCAUCCUUCUACACAGUG	652
54790_4_2342	TET2	EXON	-	chr4:105240581-105240601	CACACGCAAAGAGGGACAGU	653
54790_4_2345	TET2	EXON	-	chr4:105240589-105240609	UUAAUAACCACACGCAAAGA	654
54790_4_2347	TET2	EXON	-	chr4:105240590-105240610	CUUAAUAACCACACGCAAAG	655
54790_4_2353	TET2	EXON	-	chr4:105240616-105240636	UGUGGUGUUUUAGCCCAGUG	656
54790_4_2357	TET2	EXON	-	chr4:105240634-105240654	AAUAUUAUCUAUGAGAUGUG	657
54790_4_2365	TET2	EXON	-	chr4:105240693-105240713	AAAAGUGGGAAGAUAGGGGU	658
54790_4_2366	TET2	EXON	-	chr4:105240694-105240714	GAAAAGUGGGAAGAUAGGGG	659
54790_4_2368	TET2	EXON	-	chr4:105240697-105240717	AUGGAAAAGUGGGAAGAUAG	660
54790_4_2369	TET2	EXON	-	chr4:105240698-105240718	GAUGGAAAAGUGGGAAGAUA	661
54790_4_2370	TET2	EXON	-	chr4:105240699-105240719	AGAUGGAAAAGUGGGAAGAU	662
54790_4_2373	TET2	EXON	-	chr4:105240707-105240727	ACCAACAAAGAUGGAAAAGU	663
54790_4_2377	TET2	EXON	-	chr4:105240708-105240728	AACCAACAAAGAUGGAAAAG	664
54790_4_2380	TET2	EXON	-	chr4:105240716-105240736	CUGUUGCAAACCAACAAAGA	665

54790_4_2382	TET2	EXON	-	chr4:105240739-105240759	GAGAGUCAGGCAAAAAGAAG	666
54790_4_2383	TET2	EXON	-	chr4:105240740-105240760	GGAGAGUCAGGCAAAAAGAA	667
54790_4_2384	TET2	EXON	-	chr4:105240741-105240761	UGGAGAGUCAGGCAAAAAGA	668
54790_4_2389	TET2	EXON	-	chr4:105240752-105240772	AGAGAAAAUCCUGGAGAGUC	669
54790_4_2393	TET2	EXON	-	chr4:105240761-105240781	UUUAUGAUGAGAGAAAAUCC	670
54790_4_2422	TET2	EXON	-	chr4:105240882-105240902	UAUUGCUUGGUUUAUUGUCA	671
54790_4_2424	TET2	EXON	-	chr4:105240895-105240915	CCCACCCCCAGAAUAUUGCU	672
54790_4_2434	TET2	EXON	-	chr4:105240954-105240974	CUGGAAGCCUACCUAUUACU	673
54790_4_2439	TET2	EXON	-	chr4:105240973-105240993	AAAAAACAUUUAAAGCUAAC	674
54790_4_2446	TET2	EXON	-	chr4:105241000-105241020	UACAAUCCAAUUUUUUGAGC	675
54790_4_2454	TET2	EXON	-	chr4:105241052-105241072	CUAAACAAAGAAUACAGUGA	676
54790_4_2456	TET2	EXON	-	chr4:105241053-105241073	ACUAAACAAAGAAUACAGUG	677
54790_4_2468	TET2	EXON	-	chr4:105241107-105241127	AUAUAUUACAUUUCAGAUAU	678
54790_4_2469	TET2	EXON	-	chr4:105241108-105241128	AAUAUAUUACAUUUCAGAUA	679
54790_4_2475	TET2	EXON	-	chr4:105241136-105241156	UAUAUGUACAUGCUGGUUGU	680
54790_4_2477	TET2	EXON	-	chr4:105241143-105241163	AAUUAAGUAUAUGUACAUGC	681
54790_4_2488	TET2	EXON	-	chr4:105241193-105241213	CUUUAAAAUGAGUAGAUUGA	682
54790_4_2498	TET2	EXON	-	chr4:105241245-105241265	AACCCCCAACUACACAUUAA	683
54790_4_2499	TET2	EXON	-	chr4:105241246-105241266	UAACCCCCAACUACACAUUA	684
54790_4_2503	TET2	EXON	-	chr4:105241285-105241305	CUCAAUUAUACUAAAUAUAA	685
54790_4_2519	TET2	EXON	-	chr4:105241367-105241387	GCUCCUAGAUGGGUAUAAAA	686
54790_4_2522	TET2	EXON	-	chr4:105241377-105241397	AUUAGGACCUGCUCCUAGAU	687
54790_4_2523	TET2	EXON	-	chr4:105241378-105241398	CAUUAGGACCUGCUCCUAGA	688

54790_4_2527	TET2	EXON	-	chr4:105241394-105241414	UCUCUAAUAGCUGCCACAUU	689
54790_4_2538	TET2	EXON	-	chr4:105241470-105241490	AAAAUUCUGACAUAUACAAA	690
54790_4_2546	TET2	EXON	-	chr4:105241494-105241514	ACUGCUUUGUGUGUGAAGGC	691
54790_4_2548	TET2	EXON	-	chr4:105241498-105241518	GUUUACUGCUUUGUGUGUGA	692
54790_4_2555	TET2	EXON	-	chr4:105241568-105241588	AAUAGCACAGUGUGUAGUGU	693
54790_4_2558	TET2	EXON	-	chr4:105241593-105241613	UGUCAAAUAUUGUGACUCUC	694
54790_4_2563	TET2	EXON	-	chr4:105241647-105241667	UCUGGCAUCCAUCGCAAAGU	695
54790_4_2564	TET2	EXON	-	chr4:105241648-105241668	UUCUGGCAUCCAUCGCAAAG	696
54790_4_2568	TET2	EXON	-	chr4:105241665-105241685	CUGUUCAUGCCUGGGUUUUC	697
54790_4_2569	TET2	EXON	-	chr4:105241673-105241693	GCCGAUUCCUGUUCAUGCCU	698
54790_4_2570	TET2	EXON	-	chr4:105241674-105241694	GGCCGAUUCCUGUUCAUGCC	699
54790_4_2573	TET2	EXON	-	chr4:105241695-105241715	CUUGUGGCUGGCAGCCUGGC	700
54790_4_2574	TET2	EXON	-	chr4:105241699-105241719	GUACCUUGUGGCUGGCAGCC	701
54790_4_2575	TET2	EXON	-	chr4:105241707-105241727	CUGUGCCAGUACCUUGUGGC	702
54790_4_2577	TET2	EXON	-	chr4:105241711-105241731	GAGCCUGUGCCAGUACCUUG	703
54790_4_2578	TET2	EXON	-	chr4:105241733-105241753	GCCAGAGUGGGACCUCUCGU	704
54790_4_2582	TET2	EXON	-	chr4:105241745-105241765	UCAGGUGGGAAAGCCAGAGU	705
54790_4_2585	TET2	EXON	-	chr4:105241746-105241766	AUCAGGUGGGAAAGCCAGAG	706
54790_4_2591	TET2	EXON	-	chr4:105241759-105241779	UUGACACUUUAUUAUCAGGU	707
54790_4_2595	TET2	EXON	-	chr4:105241760-105241780	UUUGACACUUUAUUAUCAGG	708
54790_4_2598	TET2	EXON	-	chr4:105241763-105241783	UGCUUUGACACUUUAUUAUC	709
54790_4_2609	TET2	EXON	-	chr4:105241819-105241839	ACUAGGUGAAUUUAAUUCAG	710
54790_4_2613	TET2	EXON	-	chr4:105241836-105241856	AAGUACUCAUUUGCAACACU	711

54790_4_2622	TET2	EXON	-	chr4:105241878-105241898	UCACACUUGCUCUCUUUUUA	712
54790_4_2629	TET2	EXON	-	chr4:105241939-105241959	AUAGCGAAAAAAAAAAAAAA	713
54790_4_2633	TET2	EXON	-	chr4:105241986-105242006	UCUUCUACAUGCAGGAGUAA	714
54790_4_2635	TET2	EXON	-	chr4:105241994-105242014	CAUAAGAGUCUUCUACAUGC	715
54790_4_2642	TET2	EXON	-	chr4:105242038-105242058	GCUGUAUAAAUUUAUAUGAA	716
54790_4_2652	TET2	EXON	-	chr4:105242086-105242106	CUGCCUACCUCUUAAUGAAA	717
54790_4_2663	TET2	EXON	-	chr4:105242173-105242193	AGAAAUGAAUAAUUUGGAAA	718
54790_4_2665	TET2	EXON	-	chr4:105242179-105242199	UAAUUUAGAAAUGAAUAAUU	719
54790_4_2679	TET2	EXON	-	chr4:105242236-105242256	GGAAAUUCACUAUUUCUGCC	720
54790_4_2681	TET2	EXON	-	chr4:105242257-105242277	GUUGUUUUUUUUGGCACUUA	721
54790_4_2683	TET2	EXON	-	chr4:105242258-105242278	UGUUGUUUUUUUUGGCACUU	722
54790_4_2685	TET2	EXON	-	chr4:105242266-105242286	UGUUUUUUUGUUGUUUUUUU	723
54790_4_2694	TET2	EXON	-	chr4:105242360-105242380	AUCCAGCCACAUGGAAAAUA	724
54790_4_2697	TET2	EXON	-	chr4:105242369-105242389	AUAGUUAGUAUCCAGCCACA	725
54790_4_2701	TET2	EXON	-	chr4:105242395-105242415	CACAAUUUAGAAAAGGAGGC	726
54790_4_2702	TET2	EXON	-	chr4:105242399-105242419	GUCUCACAAUUUAGAAAAGG	727
54790_4_2703	TET2	EXON	-	chr4:105242402-105242422	AAUGUCUCACAAUUUAGAAA	728
54790_4_2721	TET2	EXON	-	chr4:105242462-105242482	UUUAGCUAUUUUAAAACUUG	729
54790_4_2723	TET2	EXON	-	chr4:105242463-105242483	AUUUAGCUAUUUUAAAACUU	730
54790_4_2726	TET2	EXON	-	chr4:105242464-105242484	AAUUUAGCUAUUUUAAAACU	731
54790_4_2742	TET2	EXON	-	chr4:105242539-105242559	UUUCACAAAGCACAAAAUUC	732
54790_4_2749	TET2	EXON	-	chr4:105242583-105242603	AAUUACAUGUGGGUGAAAAU	733
54790_4_2752	TET2	EXON	-	chr4:105242584-105242604	AAAUUACAUGUGGGUGAAAA	734

54790_4_2755	TET2	EXON	-	chr4:105242593-105242613	CUAUUUUGUAAAUUACAUGU	735
54790_4_2756	TET2	EXON	-	chr4:105242594-105242614	ACUAUUUUGUAAAUUACAUG	736
54790_4_2769	TET2	EXON	-	chr4:105242669-105242689	ACGCCAAGCAAACUGGAUAA	737
54790_4_2772	TET2	EXON	-	chr4:105242676-105242696	CAGGUCUACGCCAAGCAAAC	738
54790_4_2780	TET2	EXON	-	chr4:105242695-105242715	CGGUUUAUUAUUUUUUAAAC	739
54790_4_2781	TET2	EXON	-	chr4:105242715-105242735	ACCACAUCCUGAGAAAUGAA	740
54790_5_3	TET2	EXON	+	chr4:105242816-105242836	CUGUGGGUUUCUUUAAGGUU	741
54790_5_7	TET2	EXON	+	chr4:105242824-105242844	UUCUUUAAGGUUUGGACAGA	742
54790_5_8	TET2	EXON	+	chr4:105242825-105242845	UCUUUAAGGUUUGGACAGAA	743
54790_5_15	TET2	EXON	+	chr4:105242838-105242858	GACAGAAGGGUAAAGCUAUU	744
54790_5_20	TET2	EXON	+	chr4:105242861-105242881	AUUGAAAGAGUCAUCUAUAC	745
54790_5_23	TET2	EXON	+	chr4:105242870-105242890	GUCAUCUAUACUGGUAAAGA	746
54790_5_26	TET2	EXON	+	chr4:105242884-105242904	UAAAGAAGGCAAAAGUUCUC	747
54790_5_27	TET2	EXON	+	chr4:105242885-105242905	AAAGAAGGCAAAAGUUCUCA	748
54790_5_30	TET2	EXON	+	chr4:105242904-105242924	AGGGAUGUCCUAUUGCUAAG	749
54790_5_31	TET2	EXON	+	chr4:105242905-105242925	GGGAUGUCCUAUUGCUAAGU	750
54790_5_51	TET2	EXON	-	chr4:105242915-105242935	ACACUUACCCACUUAGCAAU	751
54790_6_1	TET2	EXON	+	chr4:105243550-105243570	GGAAUGGUGAUCCACGCAGG	752
54790_6_7	TET2	EXON	+	chr4:105243589-105243609	UGAAGAGAAGCUACUGUGUU	753
54790_6_9	TET2	EXON	+	chr4:105243594-105243614	AGAAGCUACUGUGUUUGGUG	754
54790_6_12	TET2	EXON	+	chr4:105243595-105243615	GAAGCUACUGUGUUUGGUGC	755
54790_6_14	TET2	EXON	+	chr4:105243605-105243625	UGUUUGGUGCGGGAGCGAGC	756
54790_6_18	TET2	EXON	+	chr4:105243619-105243639	GCGAGCUGGCCACACCUGUG	757

54790_6_19	TET2	EXON	+	chr4:105243646-105243666	AGUGAUUGUGAUUCUCAUCC	758
54790_6_21	TET2	EXON	+	chr4:105243651-105243671	UUGUGAUUCUCAUCCUGGUG	759
54790_6_24	TET2	EXON	+	chr4:105243652-105243672	UGUGAUUCUCAUCCUGGUGU	760
54790_6_27	TET2	EXON	+	chr4:105243656-105243676	AUUCUCAUCCUGGUGUGGGA	761
54790_6_30	TET2	EXON	+	chr4:105243673-105243693	GGAAGGAAUCCCGCUGUCUC	762
54790_6_32	TET2	EXON	+	chr4:105243691-105243711	UCUGGCUGACAAACUCUACU	763
54790_6_37	TET2	EXON	+	chr4:105243711-105243731	CGGAGCUUACCGAGACGCUG	764
54790_6_39	TET2	EXON	+	chr4:105243719-105243739	ACCGAGACGCUGAGGAAAUA	765
54790_6_41	TET2	EXON	+	chr4:105243738-105243758	ACGGCACGCUCACCAAUCGC	766
54790_6_48	TET2	EXON	+	chr4:105243771-105243791	AUGAAGAGUAAGUGAAGCCC	767
54790_6_49	TET2	EXON	+	chr4:105243772-105243792	UGAAGAGUAAGUGAAGCCCA	768
54790_6_51	TET2	EXON	-	chr4:105243564-105243584	GCUUCUGCGAACCACCUGCG	769
54790_6_56	TET2	EXON	-	chr4:105243631-105243651	UCACUGCAGCCUCACAGGUG	770
54790_6_57	TET2	EXON	-	chr4:105243636-105243656	CACAAUCACUGCAGCCUCAC	771
54790_6_62	TET2	EXON	-	chr4:105243667-105243687	GCGGGAUUCCUUCCCACACC	772
54790_6_66	TET2	EXON	-	chr4:105243685-105243705	GUUUGUCAGCCAGAGACAGC	773
54790_6_67	TET2	EXON	-	chr4:105243686-105243706	AGUUUGUCAGCCAGAGACAG	774
54790_6_75	TET2	EXON	-	chr4:105243723-105243743	GCCGUAUUUCCUCAGCGUCU	775
54790_6_80	TET2	EXON	-	chr4:105243753-105243773	AUUCAAGGCACACCGGCGAU	776
54790_6_82	TET2	EXON	-	chr4:105243760-105243780	ACUCUUCAUUCAAGGCACAC	777
54790_6_84	TET2	EXON	-	chr4:105243768-105243788	CUUCACUUACUCUUCAUUCA	778
54790_7_10	TET2	EXON	+	chr4:105259615-105259635	CAGGAGAACUUGCGCCUGUC	779
54790_7_12	TET2	EXON	+	chr4:105259616-105259636	AGGAGAACUUGCGCCUGUCA	780

54790_7_14	TET2	EXON	+	chr4:105259617-105259637	GGAGAACUUGCGCCUGUCAG	781
54790_7_16	TET2	EXON	+	chr4:105259621-105259641	AACUUGCGCCUGUCAGGGGC	782
54790_7_20	TET2	EXON	+	chr4:105259637-105259657	GGGCUGGAUCCAGAAACCUG	783
54790_7_21	TET2	EXON	+	chr4:105259655-105259675	UGUGGUGCCUCCUUCUCUUU	784
54790_7_23	TET2	EXON	+	chr4:105259665-105259685	CCUUCUCUUUUGGUUGUUCA	785
54790_7_31	TET2	EXON	+	chr4:105259682-105259702	UCAUGGAGCAUGUACUACAA	786
54790_7_35	TET2	EXON	+	chr4:105259713-105259733	UUGCCAGAAGCAAGAUCCCA	787
54790_7_41	TET2	EXON	+	chr4:105259730-105259750	CCAAGGAAGUUUAAGCUGCU	788
54790_7_42	TET2	EXON	+	chr4:105259731-105259751	CAAGGAAGUUUAAGCUGCUU	789
54790_7_44	TET2	EXON	+	chr4:105259732-105259752	AAGGAAGUUUAAGCUGCUUG	790
54790_7_48	TET2	EXON	+	chr4:105259747-105259767	GCUUGGGGAUGACCCAAAAG	791
54790_7_53	TET2	EXON	-	chr4:105259632-105259652	UUCUGGAUCCAGCCCCUGAC	792
54790_7_54	TET2	EXON	-	chr4:105259649-105259669	AAGGAGGCACCACAGGUUUC	793
54790_7_56	TET2	EXON	-	chr4:105259656-105259676	AAAAGAGAAGGAGGCACCAC	794
54790_7_57	TET2	EXON	-	chr4:105259665-105259685	UGAACAACCAAAAGAGAAGG	795
54790_7_58	TET2	EXON	-	chr4:105259668-105259688	CCAUGAACAACCAAAAGAGA	796
54790_7_72	TET2	EXON	-	chr4:105259719-105259739	CUUCCUUGGGAUCUUGCUUC	797
54790_7_73	TET2	EXON	-	chr4:105259732-105259752	CAAGCAGCUUAAACUUCCUU	798
54790_7_74	TET2	EXON	-	chr4:105259733-105259753	CCAAGCAGCUUAAACUUCCU	799
54790_7_80	TET2	EXON	-	chr4:105259762-105259782	GAAGUAAACAAACCUCUUUU	800
54790_7_81	TET2	EXON	-	chr4:105259763-105259783	GGAAGUAAACAAACCUCUUU	801
54790_8_8	TET2	EXON	+	chr4:105261748-105261768	CUUUAUACAGGAAGAGAAAC	802
54790_8_12	TET2	EXON	+	chr4:105261781-105261801	GCAAAACCUGUCCACUCUUA	803

54790_8_18	TET2	EXON	+	chr4:105261826-105261846	ACCUGAUGCAUAUAAUAAUC	804
54790_8_27	TET2	EXON	-	chr4:105261790-105261810	UUGGUGCCAUAAGAGUGGAC	805
54790_8_30	TET2	EXON	-	chr4:105261795-105261815	AUAUGUUGGUGCCAUAAGAG	806
54790_8_34	TET2	EXON	-	chr4:105261809-105261829	GGUGCAAGUUUCUUAUAUGU	807
54790_8_38	TET2	EXON	-	chr4:105261830-105261850	ACCUGAUUAUUAUAUGCAUC	808
54790_9_14	TET2	EXON	+	chr4:105269623-105269643	CAGAGCACCAGAGUGCCGUC	809
54790_9_15	TET2	EXON	+	chr4:105269624-105269644	AGAGCACCAGAGUGCCGUCU	810
54790_9_19	TET2	EXON	+	chr4:105269632-105269652	AGAGUGCCGUCUGGGUCUGA	811
54790_9_20	TET2	EXON	+	chr4:105269636-105269656	UGCCGUCUGGGUCUGAAGGA	812
54790_9_22	TET2	EXON	+	chr4:105269651-105269671	AAGGAAGGCCGUCCAUUCUC	813
54790_9_24	TET2	EXON	+	chr4:105269652-105269672	AGGAAGGCCGUCCAUUCUCA	814
54790_9_25	TET2	EXON	+	chr4:105269653-105269673	GGAAGGCCGUCCAUUCUCAG	815
54790_9_27	TET2	EXON	+	chr4:105269668-105269688	CUCAGGGGUCACUGCAUGUU	816
54790_9_35	TET2	EXON	+	chr4:105269714-105269734	GACUUGCACAACAUGCAGAA	817
54790_9_37	TET2	EXON	+	chr4:105269725-105269745	CAUGCAGAAUGGCAGCACAU	818
54790_9_39	TET2	EXON	+	chr4:105269733-105269753	AUGGCAGCACAUUGGUAAGU	819
54790_9_40	TET2	EXON	+	chr4:105269734-105269754	UGGCAGCACAUUGGUAAGUU	820
54790_9_43	TET2	EXON	+	chr4:105269740-105269760	CACAUUGGUAAGUUGGGCUG	821
54790_9_49	TET2	EXON	-	chr4:105269633-105269653	UUCAGACCCAGACGGCACUC	822
54790_9_50	TET2	EXON	-	chr4:105269641-105269661	GGCCUUCCUUCAGACCCAGA	823
54790_9_51	TET2	EXON	-	chr4:105269662-105269682	CAGUGACCCCUGAGAAUGGA	824
54790_9_52	TET2	EXON	-	chr4:105269666-105269686	CAUGCAGUGACCCCUGAGAA	825
54790_9_61	TET2	EXON	-	chr4:105269709-105269729	CAUGUUGUGCAAGUCUCUGU	826

54790_9_62	TET2	EXON	-	chr4:105269710-105269730	GCAUGUUGUGCAAGUCUCUG	827
54790_10_10	TET2	EXON	+	chr4:105272578-105272598	AGAGAAGACAAUCGAGAAUU	828
54790_10_13	TET2	EXON	+	chr4:105272581-105272601	GAAGACAAUCGAGAAUUUGG	829
54790_10_16	TET2	EXON	+	chr4:105272592-105272612	AGAAUUUGGAGGAAAACCUG	830
54790_10_23	TET2	EXON	+	chr4:105272637-105272657	UUUAUACAAAGUCUCUGACG	831
54790_10_29	TET2	EXON	+	chr4:105272647-105272667	GUCUCUGACGUGGAUGAGUU	832
54790_10_30	TET2	EXON	+	chr4:105272648-105272668	UCUCUGACGUGGAUGAGUUU	833
54790_10_33	TET2	EXON	+	chr4:105272655-105272675	CGUGGAUGAGUUUGGGAGUG	834
54790_10_36	TET2	EXON	+	chr4:105272664-105272684	GUUUGGGAGUGUGGAAGCUC	835
54790_10_40	TET2	EXON	+	chr4:105272667-105272687	UGGGAGUGUGGAAGCUCAGG	836
54790_10_46	TET2	EXON	+	chr4:105272678-105272698	AAGCUCAGGAGGAGAAAAAA	837
54790_10_48	TET2	EXON	+	chr4:105272683-105272703	CAGGAGGAGAAAAAACGGAG	838
54790_10_49	TET2	EXON	+	chr4:105272694-105272714	AAAACGGAGUGGUGCCAUUC	839
54790_10_51	TET2	EXON	+	chr4:105272711-105272731	UUCAGGUACUGAGUUCUUUU	840
54790_10_55	TET2	EXON	+	chr4:105272723-105272743	GUUCUUUUCGGCGAAAAGUC	841
54790_10_64	TET2	EXON	+	chr4:105272759-105272779	CAGUCAAGACUUGCCGACAA	842
54790_10_71	TET2	EXON	+	chr4:105272805-105272825	AGCUGAAAAGCUUUCCUCCC	843
54790_10_78	TET2	EXON	+	chr4:105272832-105272852	CAGCUCAAAUAAAAAUGAAA	844
54790_10_81	TET2	EXON	+	chr4:105272880-105272900	ACAAACUGAAAACGCAAGCC	845
54790_10_82	TET2	EXON	+	chr4:105272892-105272912	CGCAAGCCAGGCUAAACAGU	846
54790_10_83	TET2	EXON	+	chr4:105272896-105272916	AGCCAGGCUAAACAGUUGGC	847
54790_10_85	TET2	EXON	-	chr4:105272557-105272577	GUGAGAGUGCAUACCUGGUA	848
54790_10_87	TET2	EXON	-	chr4:105272558-105272578	AGUGAGAGUGCAUACCUGGU	849

54790_10_91	TET2	EXON	-	chr4:105272562-105272582	CUCUAGUGAGAGUGCAUACC	850
54790_10_99	TET2	EXON	-	chr4:105272611-105272631	ACGUGAAGCUGCUCAUCCUC	851
54790_10_105	TET2	EXON	-	chr4:105272638-105272658	ACGUCAGAGACUUUGUAUAA	852
54790_10_114	TET2	EXON	-	chr4:105272711-105272731	AAAAGAACUCAGUACCUGAA	853
54790_10_127	TET2	EXON	-	chr4:105272761-105272781	CUUUGUCGGCAAGUCUUGAC	854
54790_10_132	TET2	EXON	-	chr4:105272775-105272795	UGGCUUCUAGUUUCCUUUGU	855
54790_10_136	TET2	EXON	-	chr4:105272795-105272815	CUUUUCAGCUGCAGCUUUCU	856
54790_10_145	TET2	EXON	-	chr4:105272822-105272842	AUUUGAGCUGUUCUCCAGGG	857
54790_10_147	TET2	EXON	-	chr4:105272825-105272845	UUUAUUUGAGCUGUUCUCCA	858
54790_10_150	TET2	EXON	-	chr4:105272826-105272846	UUUUAUUUGAGCUGUUCUCC	859
54790_10_167	TET2	EXON	-	chr4:105272867-105272887	AGUUUGUUUUGUACGUGAUG	860
54790_10_168	TET2	EXON	-	chr4:105272868-105272888	CAGUUUGUUUUGUACGUGAU	861
54790_10_169	TET2	EXON	-	chr4:105272869-105272889	UCAGUUUGUUUUGUACGUGA	862
54790_10_177	TET2	EXON	-	chr4:105272901-105272921	UACCUGCCAACUGUUUAGCC	863
54790_11_9	TET2	EXON	+	chr4:105275178-105275198	GUCAACUCUUAUUCUGCUUC	864
54790_11_14	TET2	EXON	+	chr4:105275203-105275223	CCACCAAUCCAUACAUGAGA	865
54790_11_19	TET2	EXON	+	chr4:105275256-105275276	UCACACACUUCAGAUAUCUA	866
54790_11_24	TET2	EXON	+	chr4:105275304-105275324	UCCACCUCAUCUCAAGCUGC	867
54790_11_34	TET2	EXON	+	chr4:105275346-105275366	AAUCCCAUGAACCCUUACCC	868
54790_11_35	TET2	EXON	+	chr4:105275347-105275367	AUCCCAUGAACCCUUACCCU	869
54790_11_44	TET2	EXON	+	chr4:105275391-105275411	UAUCCAUCAUAUCAAUGCAA	870
54790_11_47	TET2	EXON	+	chr4:105275405-105275425	AUGCAAUGGAAACCUAUCAG	871
54790_11_49	TET2	EXON	+	chr4:105275426-105275446	GGACAACUGCUCCCCAUAUC	872

54790_11_50	TET2	EXON	+	chr4:105275427-105275447	GACAACUGCUCCCCAUAUCU	873
54790_11_53	TET2	EXON	+	chr4:105275456-105275476	UUCUCCCCAGUCUCAGCCGA	874
54790_11_55	TET2	EXON	+	chr4:105275467-105275487	CUCAGCCGAUGGAUCUGUAU	875
54790_11_56	TET2	EXON	+	chr4:105275533-105275553	UCCAUACACUUUACCAGCCA	876
54790_11_59	TET2	EXON	+	chr4:105275538-105275558	ACACUUUACCAGCCAAGGUU	877
54790_11_65	TET2	EXON	+	chr4:105275571-105275591	AGUUUUACAUCUAAAUACUU	878
54790_11_68	TET2	EXON	+	chr4:105275577-105275597	ACAUCUAAAUACUUAGGUUA	879
54790_11_74	TET2	EXON	+	chr4:105275594-105275614	UUAUGGAAACCAAAAUAUGC	880
54790_11_77	TET2	EXON	+	chr4:105275595-105275615	UAUGGAAACCAAAAUAUGCA	881
54790_11_79	TET2	EXON	+	chr4:105275601-105275621	AACCAAAAUAUGCAGGGAGA	882
54790_11_85	TET2	EXON	+	chr4:105275643-105275663	AGACCAAAUGUACAUCAUGU	883
54790_11_86	TET2	EXON	+	chr4:105275644-105275664	GACCAAAUGUACAUCAUGUA	884
54790_11_92	TET2	EXON	+	chr4:105275675-105275695	UCCUUAUCCCACUCAUGAGA	885
54790_11_93	TET2	EXON	+	chr4:105275679-105275699	UAUCCCACUCAUGAGAUGGA	886
54790_11_96	TET2	EXON	+	chr4:105275690-105275710	UGAGAUGGAUGGCCACUUCA	887
54790_11_99	TET2	EXON	+	chr4:105275691-105275711	GAGAUGGAUGGCCACUUCAU	888
54790_11_104	TET2	EXON	+	chr4:105275735-105275755	CAAUCUGAGCAAUCCAAACA	889
54790_11_105	TET2	EXON	+	chr4:105275748-105275768	CCAAACAUGGACUAUAAAAA	890
54790_11_110	TET2	EXON	+	chr4:105275798-105275818	CCAUAACUACAGUGCAGCUC	891
54790_11_111	TET2	EXON	+	chr4:105275799-105275819	CAUAACUACAGUGCAGCUCC	892
54790_11_116	TET2	EXON	+	chr4:105275843-105275863	UGCCCUGCAUCUCCAAAACA	893
54790_11_120	TET2	EXON	+	chr4:105275874-105275894	AUGCUUUCCCACACAGCUAA	894
54790_11_121	TET2	EXON	+	chr4:105275875-105275895	UGCUUUCCCACACAGCUAAU	895

54790_11_129	TET2	EXON	+	chr4:105275928-105275948	GAUAGAACUGCUUGUGUCCA	896
54790_11_131	TET2	EXON	+	chr4:105275931-105275951	AGAACUGCUUGUGUCCAAGG	897
54790_11_133	TET2	EXON	+	chr4:105275958-105275978	CACAAAUUAAGUGAUGCUAA	898
54790_11_137	TET2	EXON	+	chr4:105275963-105275983	AUUAAGUGAUGCUAAUGGUC	899
54790_11_139	TET2	EXON	+	chr4:105275978-105275998	UGGUCAGGAAAAGCAGCCAU	900
54790_11_141	TET2	EXON	+	chr4:105275990-105276010	GCAGCCAUUGGCACUAGUCC	901
54790_11_142	TET2	EXON	+	chr4:105275991-105276011	CAGCCAUUGGCACUAGUCCA	902
54790_11_143	TET2	EXON	+	chr4:105275996-105276016	AUUGGCACUAGUCCAGGGUG	903
54790_11_145	TET2	EXON	+	chr4:105276003-105276023	CUAGUCCAGGGUGUGGCUUC	904
54790_11_148	TET2	EXON	+	chr4:105276011-105276031	GGGUGUGGCUUCUGGUGCAG	905
54790_11_150	TET2	EXON	+	chr4:105276023-105276043	UGGUGCAGAGGACAACGAUG	906
54790_11_152	TET2	EXON	+	chr4:105276028-105276048	CAGAGGACAACGAUGAGGUC	907
54790_11_156	TET2	EXON	+	chr4:105276053-105276073	AGACAGCGAGCAGAGCUUUC	908
54790_11_158	TET2	EXON	+	chr4:105276066-105276086	AGCUUUCUGGAUCCUGACAU	909
54790_11_160	TET2	EXON	+	chr4:105276067-105276087	GCUUUCUGGAUCCUGACAUU	910
54790_11_162	TET2	EXON	+	chr4:105276068-105276088	CUUUCUGGAUCCUGACAUUG	911
54790_11_165	TET2	EXON	+	chr4:105276069-105276089	UUUCUGGAUCCUGACAUUGG	912
54790_11_168	TET2	EXON	+	chr4:105276074-105276094	GGAUCCUGACAUUGGGGGAG	913
54790_11_169	TET2	EXON	+	chr4:105276080-105276100	UGACAUUGGGGGAGUGGCCG	914
54790_11_172	TET2	EXON	+	chr4:105276093-105276113	GUGGCCGUGGCUCCAACUCA	915
54790_11_173	TET2	EXON	+	chr4:105276094-105276114	UGGCCGUGGCUCCAACUCAU	916
54790_11_182	TET2	EXON	+	chr4:105276160-105276180	CCCCUUUAAAGAAUCCCAAU	917
54790_11_186	TET2	EXON	+	chr4:105276175-105276195	CCAAUAGGAAUCACCCCACC	918

54790_11_193	TET2	EXON	+	chr4:105276225-105276245	AGCAUGAAUGAGCCAAAACA	919
54790_11_194	TET2	EXON	+	chr4:105276230-105276250	GAAUGAGCCAAAACAUGGCU	920
54790_11_196	TET2	EXON	+	chr4:105276238-105276258	CAAAACAUGGCUUGGCUCUU	921
54790_11_199	TET2	EXON	+	chr4:105276239-105276259	AAAACAUGGCUUGGCUCUUU	922
54790_11_200	TET2	EXON	+	chr4:105276251-105276271	GGCUCUUUGGGAAGCCAAAA	923
54790_11_210	TET2	EXON	+	chr4:105276275-105276295	UGAAAAAGCCCGUGAGAAAG	924
54790_11_214	TET2	EXON	+	chr4:105276294-105276314	GAGGAAGAGUGUGAAAAGUA	925
54790_11_217	TET2	EXON	+	chr4:105276324-105276344	UAUGUGCCUCAGAAAUCCCA	926
54790_11_221	TET2	EXON	+	chr4:105276340-105276360	CCCAUGGCAAAAAAGUGAAA	927
54790_11_223	TET2	EXON	+	chr4:105276341-105276361	CCAUGGCAAAAAAGUGAAAC	928
54790_11_231	TET2	EXON	+	chr4:105276409-105276429	UCAUCAAGUCUCUUGCCGAA	929
54790_11_236	TET2	EXON	+	chr4:105276466-105276486	CAUCUCCAUAUGCCUUCACU	930
54790_11_237	TET2	EXON	+	chr4:105276467-105276487	AUCUCCAUAUGCCUUCACUC	931
54790_11_239	TET2	EXON	+	chr4:105276474-105276494	UAUGCCUUCACUCGGGUCAC	932
54790_11_240	TET2	EXON	+	chr4:105276475-105276495	AUGCCUUCACUCGGGUCACA	933
54790_11_243	TET2	EXON	+	chr4:105276515-105276535	AUGAUAUCACCCCCUUUUGU	934
54790_11_252	TET2	EXON	+	chr4:105276573-105276593	GUAGUAUAGUUCUCAUGACG	935
54790_11_253	TET2	EXON	+	chr4:105276574-105276594	UAGUAUAGUUCUCAUGACGU	936
54790_11_256	TET2	EXON	+	chr4:105276580-105276600	AGUUCUCAUGACGUGGGCAG	937
54790_11_258	TET2	EXON	+	chr4:105276581-105276601	GUUCUCAUGACGUGGGCAGU	938
54790_11_259	TET2	EXON	+	chr4:105276582-105276602	UUCUCAUGACGUGGGCAGUG	939
54790_11_262	TET2	EXON	+	chr4:105276587-105276607	AUGACGUGGGCAGUGGGGAA	940
54790_11_263	TET2	EXON	+	chr4:105276611-105276631	CACAGUAUUCAUGACAAAUG	941

54790_11_265	TET2	EXON	+	chr4:105276614-105276634	AGUAUUCAUGACAAAUGUGG	942
54790_11_267	TET2	EXON	+	chr4:105276615-105276635	GUAUUCAUGACAAAUGUGGU	943
54790_11_271	TET2	EXON	+	chr4:105276646-105276666	CAGCUCACCAGCAACAAAAG	944
54790_11_273	TET2	EXON	+	chr4:105276677-105276697	CCAUAGCACUUAAUUUUCAC	945
54790_11_275	TET2	EXON	+	chr4:105276688-105276708	AAUUUUCACUGGCUCCCAAG	946
54790_11_280	TET2	EXON	+	chr4:105276698-105276718	GGCUCCCAAGUGGUCACAGA	947
54790_11_283	TET2	EXON	+	chr4:105276706-105276726	AGUGGUCACAGAUGGCAUCU	948
54790_11_285	TET2	EXON	+	chr4:105276738-105276758	AAGCAUUCUAUGCAAAAAGA	949
54790_11_288	TET2	EXON	+	chr4:105276741-105276761	CAUUCUAUGCAAAAAGAAGG	950
54790_11_289	TET2	EXON	+	chr4:105276742-105276762	AUUCUAUGCAAAAAGAAGGU	951
54790_11_291	TET2	EXON	+	chr4:105276743-105276763	UUCUAUGCAAAAAGAAGGUG	952
54790_11_297	TET2	EXON	+	chr4:105276780-105276800	CAAUUUACAUUUUUAAACAC	953
54790_11_302	TET2	EXON	+	chr4:105276792-105276812	UUAAACACUGGUUCUAUUAU	954
54790_11_316	TET2	EXON	+	chr4:105276885-105276905	AUAUCAAGUUUGCAUAGUCA	955
54790_11_321	TET2	EXON	+	chr4:105276925-105276945	UACUGUAGUAUUACAGUGAC	956
54790_11_323	TET2	EXON	+	chr4:105276945-105276965	AGGAAUCUUAAAAUACCAUC	957
54790_11_329	TET2	EXON	+	chr4:105276975-105276995	UAUAUGAUGUACUGAAAUAC	958
54790_11_330	TET2	EXON	+	chr4:105276983-105277003	GUACUGAAAUACUGGAAUUA	959
54790_11_344	TET2	EXON	+	chr4:105277042-105277062	UUAUUUAUCAAAAUAGCUAC	960
54790_11_352	TET2	EXON	+	chr4:105277058-105277078	CUACAGGAAACAUGAAUAGC	961
54790_11_356	TET2	EXON	+	chr4:105277078-105277098	AGGAAAACACUGAAUUUGUU	962
54790_11_359	TET2	EXON	+	chr4:105277094-105277114	UGUUUGGAUGUUCUAAGAAA	963
54790_11_367	TET2	EXON	+	chr4:105277108-105277128	AAGAAAUGGUGCUAAGAAAA	964

54790_11_377	TET2	EXON	+	chr4:105277187-105277207	CUCCAGUGCCCUUGAAUAAU	965
54790_11_378	TET2	EXON	+	chr4:105277188-105277208	UCCAGUGCCCUUGAAUAAUA	966
54790_11_379	TET2	EXON	+	chr4:105277189-105277209	CCAGUGCCCUUGAAUAAUAG	967
54790_11_393	TET2	EXON	+	chr4:105277255-105277275	CAAGCUUAGUUUUUAAAAUG	968
54790_11_395	TET2	EXON	+	chr4:105277267-105277287	UUAAAAUGUGGACAUUUUAA	969
54790_11_401	TET2	EXON	+	chr4:105277274-105277294	GUGGACAUUUUAAAGGCCUC	970
54790_11_410	TET2	EXON	+	chr4:105277304-105277324	UCAUCCAGUGAAGUCCUUGU	971
54790_11_419	TET2	EXON	+	chr4:105277438-105277458	UGACAACUUGAACAAUGCUA	972
54790_11_437	TET2	EXON	+	chr4:105277501-105277521	AUGCAAAGUUGAUUUUUUUA	973
54790_11_465	TET2	EXON	+	chr4:105277599-105277619	ACAGCCAGUUAAAUCCACCA	974
54790_11_466	TET2	EXON	+	chr4:105277600-105277620	CAGCCAGUUAAAUCCACCAU	975
54790_11_467	TET2	EXON	+	chr4:105277601-105277621	AGCCAGUUAAAUCCACCAUG	976
54790_11_469	TET2	EXON	+	chr4:105277609-105277629	AAAUCCACCAUGGGGCUUAC	977
54790_11_472	TET2	EXON	+	chr4:105277617-105277637	CAUGGGGCUUACUGGAUUCA	978
54790_11_474	TET2	EXON	+	chr4:105277618-105277638	AUGGGGCUUACUGGAUUCAA	979
54790_11_478	TET2	EXON	+	chr4:105277649-105277669	AGUCCACAAAACAUGUUUUC	980
54790_11_492	TET2	EXON	+	chr4:105277753-105277773	AAGAAUUUUCUAUUAACUGC	981
54790_11_503	TET2	EXON	+	chr4:105277818-105277838	CUGAAGCCUAUGCUAUUUUA	982
54790_11_504	TET2	EXON	+	chr4:105277826-105277846	UAUGCUAUUUUAUGGAUCAU	983
54790_11_511	TET2	EXON	+	chr4:105277846-105277866	AGGCUCUUCAGAGAACUGAA	984
54790_11_524	TET2	EXON	+	chr4:105277924-105277944	UAAGUGUCCUCUUUAACAAG	985
54790_11_532	TET2	EXON	+	chr4:105277963-105277983	CCUGCAUAAGAUGAAUAAAC	986
54790_11_533	TET2	EXON	+	chr4:105277964-105277984	CUGCAUAAGAUGAAUAAACA	987

54790_11_539	TET2	EXON	+	chr4:105278008-105278028	AGUUAAAAAGAAACAAAAAC	988
54790_11_541	TET2	EXON	+	chr4:105278015-105278035	AAGAAACAAAAACAGGCAGC	989
54790_11_542	TET2	EXON	+	chr4:105278025-105278045	AACAGGCAGCUGGUUUGCUG	990
54790_11_543	TET2	EXON	+	chr4:105278028-105278048	AGGCAGCUGGUUUGCUGUGG	991
54790_11_574	TET2	EXON	+	chr4:105278210-105278230	AAGCAGAAUUCACAUCAUGA	992
54790_11_587	TET2	EXON	+	chr4:105278310-105278330	CAUAUACCUCAACACUAGUU	993
54790_11_589	TET2	EXON	+	chr4:105278317-105278337	CUCAACACUAGUUUGGCAAU	994
54790_11_627	TET2	EXON	+	chr4:105278467-105278487	CCUUUUUGUUCUAAAAAUUC	995
54790_11_628	TET2	EXON	+	chr4:105278468-105278488	CUUUUUGUUCUAAAAAUUCA	996
54790_11_637	TET2	EXON	+	chr4:105278532-105278552	UGUUUAUGUAAAAUUGUUGU	997
54790_11_643	TET2	EXON	+	chr4:105278556-105278576	UAAUAAAUAUAUUCUUUGUC	998
54790_11_645	TET2	EXON	+	chr4:105278557-105278577	AAUAAAUAUAUUCUUUGUCA	999
54790_11_664	TET2	EXON	+	chr4:105278640-105278660	AACUAAUUUUGUAAAUCUGU	1000
54790_11_679	TET2	EXON	+	chr4:105278680-105278700	AAAAGCAUUUUAAAAGUUUG	1001
54790_11_686	TET2	EXON	+	chr4:105278704-105278724	AUCUUUUGACUGUUUCAAGC	1002
54790_11_700	TET2	EXON	+	chr4:105278748-105278768	AGAAUGCACUGAGUUGAUAA	1003
54790_11_701	TET2	EXON	+	chr4:105278749-105278769	GAAUGCACUGAGUUGAUAAA	1004
54790_11_703	TET2	EXON	+	chr4:105278762-105278782	UGAUAAAGGGAAAAAUUGUA	1005
54790_11_707	TET2	EXON	+	chr4:105278766-105278786	AAAGGGAAAAAUUGUAAGGC	1006
54790_11_708	TET2	EXON	+	chr4:105278773-105278793	AAAAUUGUAAGGCAGGAGUU	1007
54790_11_710	TET2	EXON	+	chr4:105278780-105278800	UAAGGCAGGAGUUUGGCAAG	1008
54790_11_711	TET2	EXON	+	chr4:105278787-105278807	GGAGUUUGGCAAGUGGCUGU	1009
54790_11_721	TET2	EXON	+	chr4:105278846-105278866	UUUGAUCCUGUAAUCACUGA	1010

54790_11_728	TET2	EXON	+	chr4:105278862-105278882	CUGAAGGUACAUACUCCAUG	1011
54790_11_729	TET2	EXON	+	chr4:105278878-105278898	CAUGUGGACUUCCCUUAAAC	1012
54790_11_731	TET2	EXON	+	chr4:105278892-105278912	UUAAACAGGCAAACACCUAC	1013
54790_11_733	TET2	EXON	+	chr4:105278897-105278917	CAGGCAAACACCUACAGGUA	1014
54790_11_734	TET2	EXON	+	chr4:105278927-105278947	CAGAUUGUACAAUUACAUUU	1015
54790_11_748	TET2	EXON	+	chr4:105278978-105278998	UAAAAUAAAUUCUUAAUCAG	1016
54790_11_751	TET2	EXON	+	chr4:105278981-105279001	AAUAAAUUCUUAAUCAGAGG	1017
54790_11_753	TET2	EXON	+	chr4:105278988-105279008	UCUUAAUCAGAGGAGGCCUU	1018
54790_11_754	TET2	EXON	+	chr4:105278989-105279009	CUUAAUCAGAGGAGGCCUUU	1019
54790_11_757	TET2	EXON	+	chr4:105278998-105279018	AGGAGGCCUUUGGGUUUUAU	1020
54790_11_762	TET2	EXON	+	chr4:105279017-105279037	UUGGUCAAAUCUUUGUAAGC	1021
54790_11_772	TET2	EXON	+	chr4:105279052-105279072	UAAAAAAUUUCUUGAAUUUG	1022
54790_11_799	TET2	EXON	+	chr4:105279173-105279193	UUUGAUUACUACAUGUGCAU	1023
54790_11_813	TET2	EXON	+	chr4:105279240-105279260	ACUGUCAUUUGUUAAACUGC	1024
54790_11_818	TET2	EXON	+	chr4:105279254-105279274	AACUGCUGGCCAACAAGAAC	1025
54790_11_822	TET2	EXON	+	chr4:105279267-105279287	CAAGAACAGGAAGUAUAGUU	1026
54790_11_825	TET2	EXON	+	chr4:105279268-105279288	AAGAACAGGAAGUAUAGUUU	1027
54790_11_827	TET2	EXON	+	chr4:105279269-105279289	AGAACAGGAAGUAUAGUUUG	1028
54790_11_828	TET2	EXON	+	chr4:105279270-105279290	GAACAGGAAGUAUAGUUUGG	1029
54790_11_829	TET2	EXON	+	chr4:105279271-105279291	AACAGGAAGUAUAGUUUGGG	1030
54790_11_832	TET2	EXON	+	chr4:105279275-105279295	GGAAGUAUAGUUUGGGGGGU	1031
54790_11_833	TET2	EXON	+	chr4:105279276-105279296	GAAGUAUAGUUUGGGGGGUU	1032
54790_11_836	TET2	EXON	+	chr4:105279277-105279297	AAGUAUAGUUUGGGGGGUUG	1033

54790_11_841	TET2	EXON	+	chr4:105279292-105279312	GGUUGGGGAGAGUUUACAUA	1034
54790_11_851	TET2	EXON	+	chr4:105279311-105279331	AAGGAAGAGAAGAAAUUGAG	1035
54790_11_859	TET2	EXON	+	chr4:105279373-105279393	CCUGCCUCAGUUAGAAUGAA	1036
54790_11_864	TET2	EXON	+	chr4:105279402-105279422	GAUCUACAAUUUGCUAAUAU	1037
54790_11_865	TET2	EXON	+	chr4:105279411-105279431	UUUGCUAAUAUAGGAAUAUC	1038
54790_11_871	TET2	EXON	+	chr4:105279449-105279469	UACUUGAAAAUGCUUCUGAG	1039
54790_11_886	TET2	EXON	+	chr4:105279524-105279544	CAGUUCACUUCUGAAGCUAG	1040
54790_11_890	TET2	EXON	+	chr4:105279538-105279558	AGCUAGUGGUUAACUUGUGU	1041
54790_11_912	TET2	EXON	+	chr4:105279632-105279652	UUUCAUUUUCAUGAGAUGUU	1042
54790_11_920	TET2	EXON	+	chr4:105279648-105279668	UGUUUGGUUUAUAAGAUCUG	1043
54790_11_921	TET2	EXON	+	chr4:105279652-105279672	UGGUUUAUAAGAUCUGAGGA	1044
54790_11_928	TET2	EXON	+	chr4:105279691-105279711	UAUUGUAAUGUUAUGAAUGC	1045
54790_11_954	TET2	EXON	-	chr4:105275038-105275058	UCGCAAAAGUUCUGUGGACA	1046
54790_11_955	TET2	EXON	-	chr4:105275039-105275059	GUCGCAAAAGUUCUGUGGAC	1047
54790_11_957	TET2	EXON	-	chr4:105275044-105275064	ACAAAGUCGCAAAAGUUCUG	1048
54790_11_960	TET2	EXON	-	chr4:105275165-105275185	AGUUGACAGACUCUGUCUGA	1049
54790_11_961	TET2	EXON	-	chr4:105275166-105275186	GAGUUGACAGACUCUGUCUG	1050
54790_11_970	TET2	EXON	-	chr4:105275206-105275226	CCGUCUCAUGUAUGGAUUGG	1051
54790_11_972	TET2	EXON	-	chr4:105275209-105275229	GGGCCGUCUCAUGUAUGGAU	1052
54790_11_973	TET2	EXON	-	chr4:105275214-105275234	GGAUUGGGCCGUCUCAUGUA	1053
54790_11_977	TET2	EXON	-	chr4:105275229-105275249	GGAUAAGGACUAACUGGAUU	1054
54790_11_978	TET2	EXON	-	chr4:105275230-105275250	UGGAUAAGGACUAACUGGAU	1055
54790_11_980	TET2	EXON	-	chr4:105275235-105275255	GAGUUUGGAUAAGGACUAAC	1056

54790_11_982	TET2	EXON	-	chr4:105275244-105275264	GUGUGUGAAGAGUUUGGAUA	1057
54790_11_984	TET2	EXON	-	chr4:105275250-105275270	UCUGAAGUGUGUGAAGAGUU	1058
54790_11_991	TET2	EXON	-	chr4:105275287-105275307	GGAAUAGAAGUUCAUAGGGC	1059
54790_11_992	TET2	EXON	-	chr4:105275291-105275311	AGGUGGAAUAGAAGUUCAUA	1060
54790_11_993	TET2	EXON	-	chr4:105275292-105275312	GAGGUGGAAUAGAAGUUCAU	1061
54790_11_999	TET2	EXON	-	chr4:105275308-105275328	ACCUGCAGCUUGAGAUGAGG	1062
54790_11_1001	TET2	EXON	-	chr4:105275311-105275331	UGAACCUGCAGCUUGAGAUG	1063
54790_11_1012	TET2	EXON	-	chr4:105275352-105275372	AGCCCAGGGUAAGGGUUCAU	1064
54790_11_1013	TET2	EXON	-	chr4:105275353-105275373	AAGCCCAGGGUAAGGGUUCA	1065
54790_11_1017	TET2	EXON	-	chr4:105275360-105275380	GAUUCAAAAGCCCAGGGUAA	1066
54790_11_1018	TET2	EXON	-	chr4:105275361-105275381	UGAUUCAAAAGCCCAGGGUA	1067
54790_11_1021	TET2	EXON	-	chr4:105275366-105275386	UAUUCUGAUUCAAAAGCCCA	1068
54790_11_1022	TET2	EXON	-	chr4:105275367-105275387	GUAUUCUGAUUCAAAAGCCC	1069
54790_11_1026	TET2	EXON	-	chr4:105275389-105275409	GCAUUGAUAUGAUGGAUAUU	1070
54790_11_1027	TET2	EXON	-	chr4:105275390-105275410	UGCAUUGAUAUGAUGGAUAU	1071
54790_11_1031	TET2	EXON	-	chr4:105275397-105275417	UUUCCAUUGCAUUGAUAUGA	1072
54790_11_1034	TET2	EXON	-	chr4:105275420-105275440	GGGAGCAGUUGUCCACUGAU	1073
54790_11_1035	TET2	EXON	-	chr4:105275440-105275460	AGAAUAGGAACCCAGAUAUG	1074
54790_11_1037	TET2	EXON	-	chr4:105275441-105275461	GAGAAUAGGAACCCAGAUAU	1075
54790_11_1040	TET2	EXON	-	chr4:105275442-105275462	GGAGAAUAGGAACCCAGAUA	1076
54790_11_1042	TET2	EXON	-	chr4:105275455-105275475	CGGCUGAGACUGGGGAGAAU	1077
54790_11_1046	TET2	EXON	-	chr4:105275463-105275483	AGAUCCAUCGGCUGAGACUG	1078
54790_11_1049	TET2	EXON	-	chr4:105275464-105275484	CAGAUCCAUCGGCUGAGACU	1079

54790_11_1050	TET2	EXON	-	chr4:105275465-105275485	ACAGAUCCAUCGGCUGAGAC	1080
54790_11_1055	TET2	EXON	-	chr4:105275475-105275495	GGAUACCUAUACAGAUCCAU	1081
54790_11_1058	TET2	EXON	-	chr4:105275496-105275516	UUAGACAGAGGGUCUUGGCU	1082
54790_11_1060	TET2	EXON	-	chr4:105275501-105275521	UGAGCUUAGACAGAGGGUCU	1083
54790_11_1061	TET2	EXON	-	chr4:105275507-105275527	GUAGACUGAGCUUAGACAGA	1084
54790_11_1062	TET2	EXON	-	chr4:105275508-105275528	GGUAGACUGAGCUUAGACAG	1085
54790_11_1067	TET2	EXON	-	chr4:105275529-105275549	UGGUAAAGUGUAUGGAUGGG	1086
54790_11_1068	TET2	EXON	-	chr4:105275532-105275552	GGCUGGUAAAGUGUAUGGAU	1087
54790_11_1069	TET2	EXON	-	chr4:105275533-105275553	UGGCUGGUAAAGUGUAUGGA	1088
54790_11_1072	TET2	EXON	-	chr4:105275537-105275557	ACCUUGGCUGGUAAAGUGUA	1089
54790_11_1075	TET2	EXON	-	chr4:105275549-105275569	GGCUAUUUCCAAACCUUGGC	1090
54790_11_1076	TET2	EXON	-	chr4:105275553-105275573	CUCUGGCUAUUUCCAAACCU	1091
54790_11_1079	TET2	EXON	-	chr4:105275570-105275590	AGUAUUUAGAUGUAAAACUC	1092
54790_11_1085	TET2	EXON	-	chr4:105275606-105275626	AACCAUCUCCCUGCAUAUUU	1093
54790_11_1089	TET2	EXON	-	chr4:105275641-105275661	AUGAUGUACAUUUGGUCUAA	1094
54790_11_1092	TET2	EXON	-	chr4:105275649-105275669	UUCCCUACAUGAUGUACAUU	1095
54790_11_1093	TET2	EXON	-	chr4:105275676-105275696	AUCUCAUGAGUGGGAUAAGG	1096
54790_11_1095	TET2	EXON	-	chr4:105275679-105275699	UCCAUCUCAUGAGUGGGAUA	1097
54790_11_1097	TET2	EXON	-	chr4:105275685-105275705	UGGCCAUCCAUCUCAUGAGU	1098
54790_11_1098	TET2	EXON	-	chr4:105275686-105275706	GUGGCCAUCCAUCUCAUGAG	1099
54790_11_1102	TET2	EXON	-	chr4:105275705-105275725	UAGAGGUGGCUCCCAUGAAG	1100
54790_11_1105	TET2	EXON	-	chr4:105275719-105275739	AUUGGGUGGUAAUCUAGAGG	1101
54790_11_1107	TET2	EXON	-	chr4:105275722-105275742	CAGAUUGGGUGGUAAUCUAG	1102

54790_11_1111	TET2	EXON	-	chr4:105275733-105275753	UUUGGAUUGCUCAGAUUGGG	1103
54790_11_1112	TET2	EXON	-	chr4:105275736-105275756	AUGUUUGGAUUGCUCAGAUU	1104
54790_11_1113	TET2	EXON	-	chr4:105275737-105275757	CAUGUUUGGAUUGCUCAGAU	1105
54790_11_1120	TET2	EXON	-	chr4:105275751-105275771	CCAUUUUUAUAGUCCAUGUU	1106
54790_11_1125	TET2	EXON	-	chr4:105275787-105275807	UAGUUAUGGAUUAUGUGAGA	1107
54790_11_1129	TET2	EXON	-	chr4:105275801-105275821	CCGGAGCUGCACUGUAGUUA	1108
54790_11_1133	TET2	EXON	-	chr4:105275820-105275840	AGAGAGCUGUUGAACAUGCC	1109
54790_11_1144	TET2	EXON	-	chr4:105275848-105275868	CUCCUUGUUUUGGAGAUGCA	1110
54790_11_1145	TET2	EXON	-	chr4:105275849-105275869	UCUCCUUGUUUUGGAGAUGC	1111
54790_11_1148	TET2	EXON	-	chr4:105275858-105275878	GCAUGUCAUUCUCCUUGUUU	1112
54790_11_1154	TET2	EXON	-	chr4:105275884-105275904	UGAUAACCCAUUAGCUGUGU	1113
54790_11_1155	TET2	EXON	-	chr4:105275885-105275905	UUGAUAACCCAUUAGCUGUG	1114
54790_11_1161	TET2	EXON	-	chr4:105275916-105275936	GUUCUAUCAUGGUUAAGAGC	1115
54790_11_1165	TET2	EXON	-	chr4:105275927-105275947	GGACACAAGCAGUUCUAUCA	1116
54790_11_1169	TET2	EXON	-	chr4:105275948-105275968	UUAAUUUGUGUAAGCCUCCU	1117
54790_11_1175	TET2	EXON	-	chr4:105275997-105276017	ACACCCUGGACUAGUGCCAA	1118
54790_11_1176	TET2	EXON	-	chr4:105276011-105276031	CUGCACCAGAAGCCACACCC	1119
54790_11_1182	TET2	EXON	-	chr4:105276081-105276101	ACGGCCACUCCCCCAAUGUC	1120
54790_11_1186	TET2	EXON	-	chr4:105276100-105276120	UGACCCAUGAGUUGGAGCCA	1121
54790_11_1188	TET2	EXON	-	chr4:105276108-105276128	AUGAGAAUUGACCCAUGAGU	1122
54790_11_1200	TET2	EXON	-	chr4:105276157-105276177	GGGAUUCUUUAAAGGGGUUG	1123
54790_11_1202	TET2	EXON	-	chr4:105276163-105276183	CCUAUUGGGAUUCUUUAAAG	1124
54790_11_1203	TET2	EXON	-	chr4:105276164-105276184	UCCUAUUGGGAUUCUUUAAA	1125

54790_11_1205	TET2	EXON	-	chr4:105276165-105276185	UUCCUAUUGGGAUUCUUUAA	1126
54790_11_1207	TET2	EXON	-	chr4:105276177-105276197	CUGGUGGGGUGAUUCCUAUU	1127
54790_11_1209	TET2	EXON	-	chr4:105276178-105276198	CCUGGUGGGGUGAUUCCUAU	1128
54790_11_1211	TET2	EXON	-	chr4:105276191-105276211	AGACGAGGGAGAUCCUGGUG	1129
54790_11_1212	TET2	EXON	-	chr4:105276192-105276212	AAGACGAGGGAGAUCCUGGU	1130
54790_11_1214	TET2	EXON	-	chr4:105276193-105276213	AAAGACGAGGGAGAUCCUGG	1131
54790_11_1216	TET2	EXON	-	chr4:105276196-105276216	GUAAAAGACGAGGGAGAUCC	1132
54790_11_1219	TET2	EXON	-	chr4:105276205-105276225	CUUAUGCUGGUAAAAGACGA	1133
54790_11_1221	TET2	EXON	-	chr4:105276206-105276226	UCUUAUGCUGGUAAAAGACG	1134
54790_11_1228	TET2	EXON	-	chr4:105276218-105276238	GCUCAUUCAUGCUCUUAUGC	1135
54790_11_1230	TET2	EXON	-	chr4:105276240-105276260	CAAAGAGCCAAGCCAUGUUU	1136
54790_11_1241	TET2	EXON	-	chr4:105276268-105276288	ACGGGCUUUUUCAGCCAUUU	1137
54790_11_1246	TET2	EXON	-	chr4:105276286-105276306	ACACUCUUCCUCUUUCUCAC	1138
54790_11_1247	TET2	EXON	-	chr4:105276287-105276307	CACACUCUUCCUCUUUCUCA	1139
54790_11_1251	TET2	EXON	-	chr4:105276320-105276340	AUUUCUGAGGCACAUAGUCU	1140
54790_11_1252	TET2	EXON	-	chr4:105276321-105276341	GAUUUCUGAGGCACAUAGUC	1141
54790_11_1260	TET2	EXON	-	chr4:105276333-105276353	UUUUUGCCAUGGGAUUUCUG	1142
54790_11_1263	TET2	EXON	-	chr4:105276343-105276363	CCGUUUCACUUUUUUGCCAU	1143
54790_11_1265	TET2	EXON	-	chr4:105276344-105276364	CCCGUUUCACUUUUUUGCCA	1144
54790_11_1269	TET2	EXON	-	chr4:105276369-105276389	GAAGUUUCAUGUGGCUCAGC	1145
54790_11_1270	TET2	EXON	-	chr4:105276378-105276398	GUGGGCUCUGAAGUUUCAUG	1146
54790_11_1273	TET2	EXON	-	chr4:105276396-105276416	UUGAUGAAACGCAGGUAAGU	1147
54790_11_1274	TET2	EXON	-	chr4:105276397-105276417	CUUGAUGAAACGCAGGUAAG	1148

54790_11_1277	TET2	EXON	-	chr4:105276404-105276424	CAAGAGACUUGAUGAAACGC	1149
54790_11_1281	TET2	EXON	-	chr4:105276427-105276447	GGUCACGGACAUGGUCCUUU	1150
54790_11_1282	TET2	EXON	-	chr4:105276436-105276456	GGAGUCUGUGGUCACGGACA	1151
54790_11_1284	TET2	EXON	-	chr4:105276442-105276462	UACUGUGGAGUCUGUGGUCA	1152
54790_11_1286	TET2	EXON	-	chr4:105276448-105276468	UGUAGUUACUGUGGAGUCUG	1153
54790_11_1288	TET2	EXON	-	chr4:105276457-105276477	AUAUGGAGAUGUAGUUACUG	1154
54790_11_1290	TET2	EXON	-	chr4:105276474-105276494	GUGACCCGAGUGAAGGCAUA	1155
54790_11_1294	TET2	EXON	-	chr4:105276481-105276501	AGGCCCUGUGACCCGAGUGA	1156
54790_11_1297	TET2	EXON	-	chr4:105276501-105276521	UAUCAUAUAUAUCUGUUGUA	1157
54790_11_1300	TET2	EXON	-	chr4:105276527-105276547	GUGAGGUAACCAACAAAAGG	1158
54790_11_1301	TET2	EXON	-	chr4:105276528-105276548	AGUGAGGUAACCAACAAAAG	1159
54790_11_1303	TET2	EXON	-	chr4:105276529-105276549	AAGUGAGGUAACCAACAAAA	1160
54790_11_1305	TET2	EXON	-	chr4:105276530-105276550	CAAGUGAGGUAACCAACAAA	1161
54790_11_1310	TET2	EXON	-	chr4:105276544-105276564	GGUUGUGGUCUUUUCAAGUG	1162
54790_11_1312	TET2	EXON	-	chr4:105276559-105276579	UACUACUGACAGGUUGGUUG	1163
54790_11_1313	TET2	EXON	-	chr4:105276565-105276585	GAACUAUACUACUGACAGGU	1164
54790_11_1314	TET2	EXON	-	chr4:105276569-105276589	AUGAGAACUAUACUACUGAC	1165
54790_11_1331	TET2	EXON	-	chr4:105276646-105276666	CUUUUGUUGCUGGUGAGCUG	1166
54790_11_1334	TET2	EXON	-	chr4:105276656-105276676	AAGAUAACCUCUUUUGUUGC	1167
54790_11_1336	TET2	EXON	-	chr4:105276680-105276700	CCAGUGAAAAUUAAGUGCUA	1168
54790_11_1339	TET2	EXON	-	chr4:105276705-105276725	GAUGCCAUCUGUGACCACUU	1169
54790_11_1344	TET2	EXON	-	chr4:105276706-105276726	AGAUGCCAUCUGUGACCACU	1170
54790_11_1354	TET2	EXON	-	chr4:105276738-105276758	UCUUUUUGCAUAGAAUGCUU	1171

54790_11_1363	TET2	EXON	-	chr4:105276780-105276800	GUGUUUAAAAAUGUAAAUUG	1172
54790_11_1370	TET2	EXON	-	chr4:105276841-105276861	AGAGUUGUAAGCGGGGGGGG	1173
54790_11_1371	TET2	EXON	-	chr4:105276842-105276862	UAGAGUUGUAAGCGGGGGGG	1174
54790_11_1374	TET2	EXON	-	chr4:105276843-105276863	GUAGAGUUGUAAGCGGGGGG	1175
54790_11_1376	TET2	EXON	-	chr4:105276844-105276864	UGUAGAGUUGUAAGCGGGGG	1176
54790_11_1378	TET2	EXON	-	chr4:105276845-105276865	GUGUAGAGUUGUAAGCGGGG	1177
54790_11_1379	TET2	EXON	-	chr4:105276846-105276866	UGUGUAGAGUUGUAAGCGGG	1178
54790_11_1382	TET2	EXON	-	chr4:105276847-105276867	AUGUGUAGAGUUGUAAGCGG	1179
54790_11_1383	TET2	EXON	-	chr4:105276848-105276868	GAUGUGUAGAGUUGUAAGCG	1180
54790_11_1386	TET2	EXON	-	chr4:105276849-105276869	AGAUGUGUAGAGUUGUAAGC	1181
54790_11_1388	TET2	EXON	-	chr4:105276850-105276870	CAGAUGUGUAGAGUUGUAAG	1182
54790_11_1394	TET2	EXON	-	chr4:105276876-105276896	AAACUUGAUAUUAUUAAAAG	1183
54790_11_1406	TET2	EXON	-	chr4:105276963-105276983	AUCAUAUAUUCAGCACCAGA	1184
54790_11_1440	TET2	EXON	-	chr4:105277160-105277180	AUAGCAUCUUGAUGAUAUAA	1185
54790_11_1444	TET2	EXON	-	chr4:105277192-105277212	CCCCUAUUAUUCAAGGGCAC	1186
54790_11_1446	TET2	EXON	-	chr4:105277198-105277218	AAGGUACCCCUAUUAUUCAA	1187
54790_11_1447	TET2	EXON	-	chr4:105277199-105277219	AAAGGUACCCCUAUUAUUCA	1188
54790_11_1451	TET2	EXON	-	chr4:105277217-105277237	UGAUAAAAACUUGAAUGAAA	1189
54790_11_1457	TET2	EXON	-	chr4:105277246-105277266	AACUAAGCUUGUGUAAGAAU	1190
54790_11_1463	TET2	EXON	-	chr4:105277293-105277313	ACUGGAUGAGCAAAAUCCAG	1191
54790_11_1469	TET2	EXON	-	chr4:105277311-105277331	UUGUCCUACAAGGACUUCAC	1192
54790_11_1471	TET2	EXON	-	chr4:105277321-105277341	AUAUCGUUUAUUGUCCUACA	1193
54790_11_1478	TET2	EXON	-	chr4:105277432-105277452	UGUUCAAGUUGUCAAAGCUU	1194

54790_11_1501	TET2	EXON	-	chr4:105277563-105277583	AUUGCUCAUCAGCAGAUGCA	1195
54790_11_1505	TET2	EXON	-	chr4:105277591-105277611	UUAACUGGCUGUGUUAAAAA	1196
54790_11_1507	TET2	EXON	-	chr4:105277606-105277626	AGCCCCAUGGUGGAUUUAAC	1197
54790_11_1509	TET2	EXON	-	chr4:105277616-105277636	GAAUCCAGUAAGCCCCAUGG	1198
54790_11_1512	TET2	EXON	-	chr4:105277619-105277639	CUUGAAUCCAGUAAGCCCCA	1199
54790_11_1517	TET2	EXON	-	chr4:105277655-105277675	GCACCAGAAAACAUGUUUUG	1200
54790_11_1547	TET2	EXON	-	chr4:105277827-105277847	UAUGAUCCAUAAAAUAGCAU	1201
54790_11_1553	TET2	EXON	-	chr4:105277879-105277899	GUACAUAAUUAUCAACACAA	1202
54790_11_1558	TET2	EXON	-	chr4:105277934-105277954	GCUCAAUCCUCUUGUUAAAG	1203
54790_11_1565	TET2	EXON	-	chr4:105277966-105277986	CCUGUUUAUUCAUCUUAUGC	1204
54790_11_1574	TET2	EXON	-	chr4:105277996-105278016	UUUUAACUGACAGAUUCACA	1205
54790_11_1613	TET2	EXON	-	chr4:105278246-105278266	CAUUAUGAUAUAUUUGUAGC	1206
54790_11_1621	TET2	EXON	-	chr4:105278304-105278324	UGUUGAGGUAUAUGACAAGU	1207
54790_11_1624	TET2	EXON	-	chr4:105278319-105278339	CUAUUGCCAAACUAGUGUUG	1208
54790_11_1630	TET2	EXON	-	chr4:105278373-105278393	AAGGACUUGGAAAAAAAUGA	1209
54790_11_1636	TET2	EXON	-	chr4:105278386-105278406	UAACAAUAAAAAAAAAGGACU	1210
54790_11_1643	TET2	EXON	-	chr4:105278392-105278412	UUUUUUUAACAAUAAAAAAA	1211
54790_11_1647	TET2	EXON	-	chr4:105278423-105278443	AGAAAUCAAGUAUUGAAAAA	1212
54790_11_1658	TET2	EXON	-	chr4:105278470-105278490	CCUGAAUUUUUAGAACAAAA	1213
54790_11_1667	TET2	EXON	-	chr4:105278513-105278533	ACAGGUGACAUGUUGGCAUA	1214
54790_11_1669	TET2	EXON	-	chr4:105278514-105278534	CACAGGUGACAUGUUGGCAU	1215
54790_11_1674	TET2	EXON	-	chr4:105278520-105278540	CAUAAACACAGGUGACAUGU	1216
54790_11_1675	TET2	EXON	-	chr4:105278531-105278551	CAACAAUUUUACAUAAACAC	1217

54790_11_1682	TET2	EXON	-	chr4:105278589-105278609	AGAAGGGAUUCAAAAUAAAA	1218
54790_11_1683	TET2	EXON	-	chr4:105278590-105278610	UAGAAGGGAUUCAAAAUAAA	1219
54790_11_1685	TET2	EXON	-	chr4:105278605-105278625	CAUGUACAAGUAAAAUAGAA	1220
54790_11_1687	TET2	EXON	-	chr4:105278606-105278626	ACAUGUACAAGUAAAAUAGA	1221
54790_11_1733	TET2	EXON	-	chr4:105278813-105278833	GAGAGUUACAAGUAAGUCUC	1222
54790_11_1739	TET2	EXON	-	chr4:105278855-105278875	UAUGUACCUUCAGUGAUUAC	1223
54790_11_1746	TET2	EXON	-	chr4:105278880-105278900	CUGUUUAAGGGAAGUCCACA	1224
54790_11_1749	TET2	EXON	-	chr4:105278892-105278912	GUAGGUGUUUGCCUGUUUAA	1225
54790_11_1751	TET2	EXON	-	chr4:105278893-105278913	UGUAGGUGUUUGCCUGUUUA	1226
54790_11_1754	TET2	EXON	-	chr4:105278910-105278930	CUGUUGCACACCAUACCUGU	1227
54790_11_1758	TET2	EXON	-	chr4:105278953-105278973	UAGUAAGCAAAAAUGUAUUU	1228
54790_11_1768	TET2	EXON	-	chr4:105279007-105279027	AUUUGACCAAUAAAACCCAA	1229
54790_11_1784	TET2	EXON	-	chr4:105279084-105279104	UUUUGGAAAUGUUUGCAAAU	1230
54790_11_1789	TET2	EXON	-	chr4:105279101-105279121	GUAAGCAAAGCAAACAUUUU	1231
54790_11_1792	TET2	EXON	-	chr4:105279127-105279147	CAAAAAACAUUAAAAUCAUG	1232
54790_11_1796	TET2	EXON	-	chr4:105279154-105279174	AUGUUUGGGGCUAGAUAUUA	1233
54790_11_1797	TET2	EXON	-	chr4:105279167-105279187	AUGUAGUAAUCAAAUGUUUG	1234
54790_11_1798	TET2	EXON	-	chr4:105279168-105279188	CAUGUAGUAAUCAAAUGUUU	1235
54790_11_1800	TET2	EXON	-	chr4:105279169-105279189	ACAUGUAGUAAUCAAAUGUU	1236
54790_11_1803	TET2	EXON	-	chr4:105279212-105279232	CAGAAAUCAAAUAUUAAGAA	1237
54790_11_1809	TET2	EXON	-	chr4:105279240-105279260	GCAGUUUAACAAAUGACAGU	1238
54790_11_1814	TET2	EXON	-	chr4:105279266-105279286	ACUAUACUUCCUGUUCUUGU	1239
54790_11_1832	TET2	EXON	-	chr4:105279376-105279396	CCAUUCAUUCUAACUGAGGC	1240

54790_11_1833	TET2	EXON	-	chr4:105279380-105279400	CUUUCCAUUCAUUCUAACUG	1241
54790_11_1841	TET2	EXON	-	chr4:105279449-105279469	CUCAGAAGCAUUUUCAAGUA	1242
54790_11_1877	TET2	EXON	-	chr4:105279748-105279768	AACACUCACAUAGCAUUAUC	1243

Sistemas de Edição Genética TALEN

[0294] TALENs são produzidas artificialmente fundindo um domínio de ligação de DNA efetor TAL a um domínio de clivagem de DNA. Efeitos do tipo ativador da transcrição (TALEs) podem ser modificados para se ligarem a qualquer sequência de DNA desejada, incluindo uma porção do gene HLA ou TCR. Combinando um TALE modificado com um domínio de clivagem de DNA, uma enzima de restrição pode ser produzida que é específica para qualquer sequência de DNA desejada, incluindo uma sequência de HLA ou TCR. Estas podem, então, ser introduzidas em uma célula onde podem ser usadas para edição de genoma. Boch (2011) *Nature Biotech*. 29: 135-6; e Boch *et al*. (2009) *Science* 326: 1509-12; Moscou *et al.* (2009) *Science* 326: 3501.

[0295] TALEs são proteínas secretadas por bactérias *Xanthomonas*. O domínio de ligação de DNA contém uma sequência de 33-34 aminoácidos altamente conservada repetida, com a exceção do 12º e 13º aminoácidos. Essas duas posições são altamente variáveis, mostrando uma correlação forte com reconhecimento de nucleotídeos específico. Estas podem ser, assim, manipuladas para se ligarem a uma sequência de DNA desejada.

[0296] Para produzir uma TALEN, uma proteína TALE é fundida a uma nuclease (N), que é, por exemplo, uma endonuclease FokI do tipo selvagem ou mutada. Diversas mutações a FokI foram realizadas para seu uso em TALENs; essas, por exemplo, aprimoram a especificidade ou a atividade de clivagem. Cermak *et al*. (2011) *Nucl. Acids Res.* 39: e82; Miller *et al.* (2011) *Nature Biotech*. 29: 143-8; Hockemeyer *et al*. (2011) *Nature Biotech*. 29: 731-734; Wood *et al.* (2011) *Science* 333: 307; Doyon

et al. (2010) *Nature Methods* 8: 74-79; Szczepek *et al.* (2007) *Nature Biotech.* 25: 786-793; e Guo *et al.* (2010) *J. Mol. Biol.* 200: 96.

[0297] O domínio FokI funciona como um dímero, exigindo dois construtos com domínios de ligação de DNA únicos para sítios no genoma-alvo com orientação e espaçamento adequados. Tanto o número de resíduos de aminoácidos entre o domínio de ligação de DNA de TALE e o domínio de clivagem de FokI quanto o número de bases entre os dois sítios de ligação de TALEN individuais parecem ser parâmetros importantes para atingir níveis altos de atividade. Miller *et al.* (2011) *Nature Biotech.* 29: 143-8.

[0298] Um TALEN específico para um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) pode ser usado dentro de uma célula para produzir uma quebra na fita dupla (DSB). Uma mutação pode ser introduzida no sítio de quebra se os mecanismos de reparo repararem inadequadamente a quebra por meio da união de extremidades não homólogas. Por exemplo, o reparo inadequado pode introduzir uma mutação de deslocamento de quadro. Alternativamente, DNA estranho pode ser introduzido na célula juntamente com o TALEN, por exemplo, DNA codificando um CAR, por exemplo, como descrito aqui; dependendo das sequências do DNA estranho e sequência cromossômica, este processo pode ser usado para integrar o DNA codificando o CAR, por exemplo, como descrito aqui, no sítio ou perto do sítio visado pelo TALEN. Como mostrado aqui, nos exemplos, mas sem ficar restringido pela teoria, tal integração pode conduzir à expressão do CAR bem como disrupção de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Tal molécula de DNA estranho é referida aqui como "DNA-modelo". Em modalidades, o DNA-modelo também compreende braços de homologia a 5', 3' ou a 5' e 3'

relativamente ao ácido nucleico do DNA-modelo que codifica a molécula ou moléculas de interesse (por exemplo, que codifica um CAR descrito aqui), em que os referidos braços de homologia são complementares a sequência de DNA genômico flanqueando a sequência-alvo.

[0299] TALENs específicos para sequências em um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) podem ser construídos usando qualquer método conhecido na técnica, incluindo vários esquemas usando componentes modulares. Zhang *et al.* (2011) *Nature Biotech.* 29: 149-53; Geibler *et al.* (2011) *PLoS ONE* 6: e19509; US 8,420,782; US 8,470,973, cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade.

Nucleases Dedo de Zinco

[0300] "ZFN" ou "Nuclease Dedo de Zinco" se relaciona com uma nuclease dedo de zinco, uma nuclease artificial que pode ser usada para modificar, por exemplo, deletar, um ou mais ácidos nucleicos de uma sequência de ácido nucleico desejada, por exemplo, um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2).

[0301] Como uma TALEN, uma ZFN compreende um domínio de nuclease de FokI (ou derivado do mesmo) fundido a um domínio de ligação a DNA. No caso de uma ZFN, o domínio de ligação a DNA compreende um ou mais dedos de zinco. Carroll *et al.* (2011) *Genetics Society of America* 188: 773-782; e Kim *et al.* (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 1156-1160.

[0302] Um dedo de zinco é um motivo estrutural de proteína pequena estabilizado por um ou mais íons de zinco. Um dedo de zinco pode compreender, por exemplo, Cys2His2, e pode reconhecer uma sequência de aproximadamente 3 pb. Vários dedos de zinco de especificidade conhecida podem ser combinados para produzir

polipeptídeos de múltiplos dedos que reconhecem sequências de cerca de 6, 9, 12, 15 ou 18 pares de bases. Várias técnicas de seleção e montagem modular estão disponíveis para gerar dedos de zinco (e combinações dos mesmos) que reconhecem sequências específicas, incluindo exibição em fagos, sistemas de um híbrido de levedura, sistemas de um híbrido e dois híbridos bacterianos e células de mamífero.

[0303] Como uma TALEN, uma ZFN precisa dimerizar para clivar DNA. Assim, um par de ZFNs é necessário para visar sítios de DNA não palindrômicos. As duas ZFNs individuais precisam se ligar a fitas opostas do DNA com suas nucleases adequadamente afastadas. Bitinaite *et al.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 10570-5.

[0304] Também como um TALEN, uma ZFN pode criar uma quebra de fita dupla no DNA, que pode criar uma mutação de deslocamento de quadro se reparada inadequadamente, levando a uma diminuição da expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) em uma célula. ZFNs também podem ser usadas com recombinação homóloga para mutar um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) ou para introduzir ácido nucleico codificando um CAR em um sítio na sequência visada ou próximo desta. Como discutido acima, o ácido nucleico codificando um CAR pode ser introduzido como parte de um DNA-modelo. Em modalidades, o DNA-modelo também compreende braços de homologia a 5', 3' ou a 5' e 3' relativamente ao ácido nucleico do DNA-modelo que codifica a molécula ou moléculas de interesse (por exemplo, que codifica um CAR descrito aqui), em que os referidos braços de homologia são complementares a sequência de DNA genômico flanqueando a sequência-alvo.

[0305] ZFNs específicas para sequências em um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) podem ser construídas usando qualquer método conhecido na técnica. Ver, por exemplo, Provasi (2011) *Nature Med.* 18: 807-815; Torikai (2013) *Blood* 122: 1341-1349; Cathomen *et al.* (2008) *Mol. Ther.* 16: 1200-7; e Guo *et al.* (2010) *J. Mol. Biol.* 400: 96; Publicação de Patente U.S. 2011/0158957; e Publicação de Patente U.S. 2012/0060230, cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade. Em modalidades, o sistema de edição genética ZFN também pode compreender ácido nucleico codificando um ou mais componentes do sistema de edição genética ZFN, por exemplo, um sistema de edição genética ZFN direcionado para um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2).

[0306] Sem ficar restringido pela teoria, se crê que o uso de sistemas de edição genética (por exemplo, sistemas de edição genética CRISPR/Cas) que visam um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) pode permitir modular (por exemplo, inibir) uma ou mais funções de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), por exemplo, ao causar um evento de edição que resulta em expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) truncado e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) truncado. Mais uma vez, sem ficar restringido pela teoria, tal produto genético associado a Tet (por exemplo, um produto genético associado a Tet2) truncado e/ou produto genético Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) truncado pode preservar uma ou mais funções do produto genético associado a Tet (por

exemplo, um produto genético associado a Tet2) e/ou produto genético Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) (por exemplo, uma função de suporte), ao mesmo tempo que inibe uma ou mais funções diferentes do produto genético associado a Tet (por exemplo, um produto genético associado a Tet2) e/ou produto genético Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) (por exemplo, uma função catalítica) e, como tal, pode ser preferencial. Sistemas de edição genética que visam um éxon ou íntron tardio de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) podem ser particularmente preferenciais a este respeito. Em um aspecto, o sistema de edição genética da invenção visa um éxon ou íntron tardio de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em um aspecto, o sistema de edição genética da invenção visa um éxon ou íntron a jusante do éxon 8. Em um aspecto, o sistema de edição genética visa o éxon 8 ou éxon 9, por exemplo, éxon 9, de um gene Tet2.

[0307] Sem ficar restringido pela teoria, também pode ser preferencial, em outras modalidades, visar um éxon ou íntron inicial de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), por exemplo, para introduzir um códon de terminação prematuro no gene visado que resulta em ausência de expressão do produto genético, ou expressão de um produto genético completamente não funcional. Sistemas de edição genética que visam um éxon ou íntron inicial de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) podem ser particularmente preferenciais a este respeito. Em um aspecto, o sistema de edição genética da invenção visa um éxon ou íntron inicial de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene

associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em um aspecto, o sistema de edição genética da invenção visa um éxon ou íntron a montante do éxon 4. Em modalidades, o sistema de edição genética visa o éxon 1, éxon 2 ou éxon 3, por exemplo, éxon 3, de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2).

[0308] Sem ficar restringido pela teoria, também pode ser preferencial, em outras modalidades, visar uma sequência de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) que é específica para uma ou mais isoformas do gene, mas não afeta uma ou mais isoformas diferentes do gene. Em modalidades, pode ser preferencial visar especificamente uma isoforma de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) que contenha um domínio catalítico.

Moduladores de RNA de Fita Dupla, por exemplo, SiRNA ou ShRNA

[0309] De acordo com a presente invenção, RNA de fita dupla ("dsRNA"), por exemplo, siRNA ou shRNA, pode ser usado como modulador (por exemplo, inibidor) de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Também são contemplados pela presente invenção os usos de ácido nucleico codificando os referidos moduladores (por exemplo, inibidores) dsRNA de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2).

[0310] Em uma modalidade, o modulador (por exemplo, inibidor) de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) é

um ácido nucleico, por exemplo, um dsRNA, por exemplo, um siRNA ou shRNA, específico para ácido nucleico codificando um gene ou produto genético associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene ou produto genético Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), por exemplo, DNA genômico ou mRNA codificando um produto genético associado a Tet (por exemplo, um produto genético associado a Tet2) e/ou um produto genético Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2).

[0311] Um aspecto da invenção proporciona uma composição compreendendo um dsRNA, por exemplo, um siRNA ou shRNA, compreendendo pelo menos 15 nucleotídeos contíguos, por exemplo, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ou 25 nucleotídeos contíguos, por exemplo, 21 nucleotídeos contíguos, que são complementares (por exemplo, 100% complementares) a uma sequência de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), sequência de ácido nucleico (por exemplo, DNA genômico ou mRNA codificando um produto genético associado a Tet (por exemplo, um produto genético associado a Tet2) e/ou um produto genético Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2)). Em modalidades, os pelo menos 15 nucleotídeos contíguos, por exemplo, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ou 25 nucleotídeos contíguos, por exemplo, 21 nucleotídeos contíguos, incluem nucleotídeos contíguos de uma sequência-alvo de shRNA ou ácido nucleico codificando shRNA de Tet2 listado na Tabela 4. É entendido que algumas das sequências-alvo e/ou moléculas de shRNA são apresentadas como DNA, mas os agentes de dsRNA visando estas sequências ou compreendendo estas sequências podem ser RNA, ou qualquer nucleotídeo, nucleotídeo modificado ou substituto revelados aqui e/ou conhecidos na técnica, desde que a molécula ainda possa mediar a interferência de RNA.

[0312] Em uma modalidade, uma molécula de ácido nucleico que codifica uma molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) é operavelmente ligada a um promotor, por exemplo, um promotor derivado de H1 ou U6, de modo que a molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) é expressa dentro de uma célula expressando CAR. Ver, por exemplo, Tiscornia G., "Development of Lentiviral Vectors Expressing siRNA", Capítulo 3, em "Gene Transfer: Delivery and Expression of DNA and RNA" (editores Friedmann e Rossi), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NI, EUA, 2007; Brummelkamp TR, *et al.* (2002) *Science* 296: 550–553; Miyagishi M, *et al.* (2002) *Nat. Biotechnol.* 19: 497-500. Em uma modalidade, a molécula de ácido nucleico que codifica uma molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) está presente no mesmo vetor, por exemplo, um vetor lentiviral, que compreende uma molécula de ácido nucleico que codifica um componente, por exemplo, todos os componentes, do CAR. Em uma tal modalidade, a molécula de ácido nucleico que codifica uma molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), está localizada no vetor, por exemplo, no vetor lentiviral, a 5' ou 3' relativamente ao ácido nucleico que codifica um componente, por exemplo, todos os componentes, do CAR. A molécula de ácido nucleico que codifica uma molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por

exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) pode ser transcrita na mesma direção ou em uma direção diferente do ácido nucleico que codifica um componente, por exemplo, todos os componentes, do CAR. Em uma modalidade, a molécula de ácido nucleico que codifica uma molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) está presente em um vetor diferente do vetor que compreende uma molécula de ácido nucleico que codifica um componente, por exemplo, todos os componentes, do CAR. Em uma modalidade, a molécula de ácido nucleico que codifica uma molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) é transientemente expressa dentro de uma célula expressando CAR. Em uma modalidade, a molécula de ácido nucleico que codifica uma molécula de dsRNA que inibe a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) é estavelmente integrada no genoma de uma célula expressando CAR.

[0313] Exemplos de sequências de ácidos nucleicos que codificam sequências de shRNA são proporcionados abaixo. A sequência-alvo se relaciona com a sequência dentro do DNA genômico de Tet2 (ou DNA envolvente). O ácido nucleico codificando shRNA de Tet2 codifica moléculas de shRNA úteis na presente invenção. Em modalidades, o inibidor de Tet2 é um siRNA ou shRNA específico para uma sequência-alvo listada abaixo, ou específico para o seu complemento de mRNA. Em modalidades, o inibidor de Tet2 é um shRNA codificado pelo Ácido Nucleico codificando shRNA de Tet2 da tabela 4 abaixo. Em modalidades, o inibidor de Tet2 é ácido nucleico compreendido pelo ácido nucleico codificando shRNA Tet2 da tabela 4 abaixo, por exemplo,

que está sob o controle de um promotor de U6 ou H1 de modo que é produzido um shRNA de Tet2. Em modalidades, a invenção proporciona uma sequência compreendendo siRNA ou shRNA que é o análogo de RNA (isto é, todos os resíduos de ácido nucleico T substituídos por resíduos de ácido nucleico U) da sequência-alvo de shRNA, por exemplo, a sequência-alvo de shRNA de quaisquer dos shRNAs da Tabela 4.

Tabela 4

	SHRNA_NOME	**Sequência-alvo de shRNA**	**Ácido Nucleico codificando shRNA de Tet2**
TET2	TET2-3838_76472_insert (TET2 shRNA #1)	CACATGGCGTTTATCCAGAAT (SEQ ID Nº: 1244)	CACATGGCGTTTATCCAGAATCTCGAGATTCTGGATAAACGCCATGTGTTTTTTGAATTCGCACCAGCACGCTACGCACACACAGTACACACACTGACGTTTCGCCGTCTTC (SEQ ID Nº: 1253)
TET2	TET2_NM_017628.4_2516_concept (TET2 shRNA #2)	CAGATGCACAGGCCAATTAAG (SEQ ID Nº: 1245)	GAAGACGCACCGGCAGATGTACAGGCTAATTAAGGTTAATATTCATAGCCTTAATTGGCCTGTGCATCTGTTTTTTGAATTCGCACCAGCACGCTACGCAACACGTCAACCAGTGTCAGTGTTTCGCCGT (SEQ ID Nº: 1254)
TET2	TET2_NM_017628.4_2562_concept (TET2 shRNA #3)	GAGCTGCTGAATTCAACTAGA (SEQ ID Nº: 1246)	GAAGACGCACCGGGAGCTGCTGAATTCAATTAGAGTTAATATTCATAGCTCTAGTTGAATTCAGCAGCTCTTTTTTGAATTCGCACCAGCACGCTACGCATGCAGTCAACCAGTGTCAACCATTCGCCGT (SEQ ID Nº: 1255)
TET2	TET2-6571_76471_target (TET2 shRNA #4)	CAGATCGCCATAACATAAATA (SEQ ID Nº: 1247)	CAGATCGCCATAACATAAATACTCGAGTATTTATGTTATGGCGATCTGTTTTTTGAATTCGCACCAGCACGCTACGCATGACCAGTACACACACTGCATGTTCGCCGTCTTC (SEQ ID Nº: 1256)
TET2	TET2_NM_017628.4_2561_target (TET2 shRNA #5)	GACCATGGAGCAGCATCTGAA (SEQ ID Nº: 1248)	GAAGACGCACCGGGACCATGGAGTAGCATTTGAAGTTAATATTCATAGCTTCAGATGCTGCTCCATGGTCTTTTTTTGAATTCGCACCAGCACGCTACGCATGGTGTCAACCAGTGTCAGTTGTTCGCCGT (SEQ ID Nº: 1257)
TET2	TET2 shRNA #6	GCCAAGTCATTATTTGACCAT (SEQ ID Nº: 1249)	GCCAAGTCATTATTTGACCATCTCGAGATGGTCAAATAATGACTTGGCTTTTTTGA (SEQ ID Nº: 1258)

TET2	TET2 shRNA #7	CCTCAGAGATATT GTGGGTTT (SEQ ID Nº: 1250)	CCTCAGAGATATTGTGGGTTTCTCGAGAA ACCCACAATATCTCTGAGGTTTTTTGA (SEQ ID Nº: 1259)
TET2	TET2 shRNA #8	GGGTAAGCCAAGA AAGAAA (SEQ ID Nº: 1251)	GGGTAAGCCAAGAAAGAAACTCGAGTTTC TTTCTTGGCTTACCCTTTTTTGA (SEQ ID Nº: 1260)
TET2	TET2 8 long (TET2 shRNA #9)	GGGTAAGCCAAGA AAGAAA (SEQ ID Nº: 1252)	GAAGACGCACCGGGGGTAAGCCAAGAAA GAAAGTTAATATTCATAGCTTTCTTTCTTG GCTTACCCTTTTTTGAATTCGCACCAGCA CGCTACGCAACACGTCAACCAGTGTCAGT GTTTCGCCGT (SEQ ID Nº: 1261)

[0314] Inibidor dsRNA adicional de Tet2, por exemplo, moléculas de shRNA e siRNA, pode ser planejado e testado usando métodos conhecidos na técnica e como descrito aqui. Em modalidades, o dsRNA inibidor de Tet2, por exemplo, shRNA ou siRNA, visa uma sequência de SEQ ID Nº: 1358. Em modalidades, o dsRNA inibidor de Tet2, por exemplo, shRNA ou siRNA, visa uma sequência de SEQ ID Nº: 1359. Em modalidades, o dsRNA inibidor de Tet2, por exemplo, shRNA ou siRNA, visa uma sequência de SEQ ID Nº: 1360. Em modalidades, o dsRNA inibidor de Tet2, por exemplo, shRNA ou siRNA, visa uma sequência de SEQ ID Nº: 1361. Em modalidades, o dsRNA inibidor de Tet2, por exemplo, shRNA ou siRNA, visa uma sequência de SEQ ID Nº: 1362. Em modalidades, o dsRNA inibidor de Tet2, por exemplo, shRNA ou siRNA, visa uma sequência de SEQ ID Nº: 1363. Em modalidades, o dsRNA inibidor de Tet2, por exemplo, shRNA ou siRNA, visa uma sequência de um mRNA codificando Tet2.

[0315] Em algumas modalidades, o dsRNA inibidor é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1. Por exemplo, dsRNAs inibidores exemplificativos de PRDM1, por exemplo, moléculas de shRNA e siRNA, são conhecidos na técnica, por exemplo, como descrito em WO 2013/070563, incorporado aqui a título de referência na sua totalidade.

[0316] Em modalidades, o inibidor é um ácido nucleico, por exemplo, DNA, codificando um dsRNA inibidor, por exemplo, shRNA ou siRNA, de quaisquer das modalidades acima. Em modalidades, o ácido nucleico, por exemplo, DNA, é disposto em um vetor, por exemplo, qualquer sistema de expressão convencional, por exemplo, como descrito aqui, por exemplo, um vetor lentiviral.

[0317] Sem ficar restringido pela teoria, um dsRNA inibidor (por exemplo, siRNA ou shRNA) que visa uma sequência de um mRNA de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), que é específico para uma ou mais isoformas do gene mas não afeta uma ou mais isoformas diferentes do gene (por exemplo, devido a abordagem seletiva de uma junção de encadeamento única, ou abordagem seletiva de um domínio que está presente em uma ou mais isoformas do gene mas não está presente em uma ou mais isoformas diferentes do gene). Em modalidades, pode ser preferencial visar especificamente uma isoforma de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) que contenha um domínio catalítico.

Moléculas Pequenas

[0318] Em alguma modalidade, o modulador de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) é uma molécula pequena. Moduladores (por exemplo, inibidores) exemplificativos que são moléculas pequenas são descritos abaixo.

Inibidores de IFN-γ

[0319] Em modalidades, um inibidor de IFN-γ é uma molécula pequena que inibe ou reduz a expressão e/ou função de IFN-γ. Em um exemplo, um inibidor de IFN-γ de acordo com a presente invenção é uma molécula pequena que inibe ou reduz a síntese de IFN-γ, por

exemplo, um composto bisfenol ou fenóxi, ou um seu derivado. Ver, por exemplo, US 5,880,146, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade. Em outro exemplo, um inibidor de IFN-γ de acordo com a presente invenção é uma molécula pequena que inibe IFN-γ ao decrescer a produção de fator indutor de IFN-γ (IGIF) ou inibir a enzima conversora de interleucina-1β (ICE). Ver, por exemplo, US 5.985.863, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

Inibidores de NOTCH2

[0320] Em modalidades, um inibidor de NOTCH2 é uma molécula pequena que inibe ou reduz a expressão e/ou função de Notch2.

[0321] Em um exemplo, um inibidor de NOTCH2 de acordo com a presente invenção é gliotoxina ou um seu derivado, por exemplo, selecionado do grupo consistindo em acetilgliotoxina, 6-C_{1-3}-alcoxigliotoxina, 6-C_{2-3}-aciloxi-gliotoxina, 6-di-hidro-gliotoxina, 6-di-hidróxi-gliotoxina, 6-[(metoxicarbonil)metóxi]-gliotoxina ou 6-cianometóxi-gliotoxina, ou um seu sal. Ver, por exemplo, US 7.981.878, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

[0322] Em um exemplo, um inibidor de NOTCH2 de acordo com a presente invenção é 6-4[-(terc-butil)-fenóxi]piridino-3-amina, ou um seu derivado, ver, por exemplo, US 9,296,682, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

[0323] Em um exemplo, um inibidor de NOTCH2 de acordo com a presente invenção é um inibidor de γ-secretase, por exemplo, MK-0752 (Merck & Co.), RO4929097 (Roche), semagacestat (LY-450139; Eli Lilly & Co.), avagacestat (BMS-708163; Bristol-Myers Squib), DAPT (éster de t-Butila de N-[N-(3,5-Difluorofenilacetil-L-alanil)]-S-fenilglicina), L685,458, composto E ((s,s)-2-(3,5-Difluorofenil)-acetilamino]-N-(1-metil-2-oxo-5-fenil-2,3-di-hidro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-3-il)-propionamida), DBZ (dibenzazepina), JLK6 (7-amino-4-cloro-3-metóxi-isocumarina) ou Composto 18 ([11-endo]-N-(5,6,7,8,9,10-hexa-hidro-6,9-

metanobenzo[9][8]anulen-11-il)-tiofeno-2-sulfonamida). Ver, por exemplo, Purow B. *Adv Exp Med Biol*. 2012;727:305-19, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

Inibidores de CD28

[0324] Em modalidades, um inibidor de CD28 é uma molécula pequena que inibe ou reduz a expressão e/ou função de CD28.

Inibidores de ICOS

[0325] Em modalidades, um inibidor de ICOS é uma molécula pequena que inibe ou reduz a expressão e/ou função de ICOS.

Inibidores de IL2RA

[0326] Em modalidades, um inibidor de IL2RA é uma molécula pequena que inibe ou reduz a expressão e/ou função de IL2RA.

[0327] Em um exemplo, um inibidor de IL2RA de acordo com a presente invenção é uma molécula pequena que reduz a ligação entre IL-2 e IL2RA, por exemplo, análogos de acilfenilalanina, por exemplo, Ro26-4550 (Roche) ou um seu derivado. Ver, por exemplo, Thanos *et al., Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

Inibidores de PRDM1

[0328] Em modalidades, um inibidor de PRDM1 é uma molécula pequena que inibe ou reduz a expressão e/ou função de PRDM1.

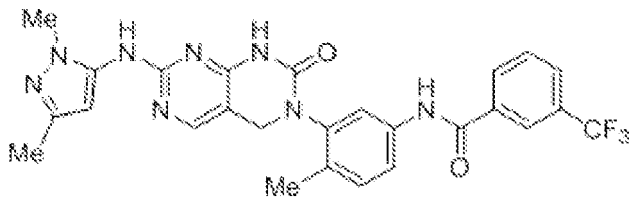
Inibidores de Tet

[0329] Em modalidades, um inibidor de Tet é uma molécula pequena que inibe a expressão e/ou uma função de Tet, por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2.

Inibidores de Tet2

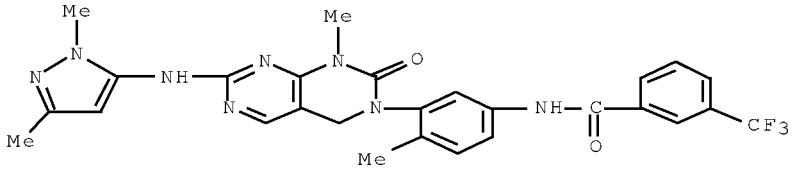
[0330] Em modalidades, um inibidor de Tet2 é uma molécula pequena que inibe a expressão e/ou função de Tet2. Por exemplo, um inibidor de Tet2 de acordo com a presente invenção é 2-hidroxiglutarato (CAS #2889-31-8).

[0331] Em outro exemplo, um inibidor de Tet2 de acordo com a presente invenção tem a estrutura seguinte:

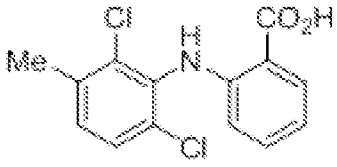


Pluripotina SC1

[0332] Em outro exemplo, um inibidor de Tet2 de acordo com a presente invenção é N-[3-[7-(2,5-Dimetil-2H-pirazol-3-ilamino)-1-metil-2-oxo-1,4-di-hidro-2H-pirimido[4,5-d]pirimidin-3-il]-4-metilfenil]-3-trifluorometil-benzamida (CAS #839707-37-8), e tem a estrutura seguinte:



[0333] Em outro exemplo, um inibidor de Tet2 de acordo com a presente invenção é ácido 2-[(2,6-dicloro-3-metilfenil)amino]benzoico (CAS # 644-62-2), e tem a estrutura seguinte:



ácido meclofenâmico

[0334] Em modalidades, o inibidor de Tet2 da presente invenção é um sal farmaceuticamente aceitável de quaisquer dos anteriores.

Inibidores de HDAC

[0335] Quaisquer inibidores de HDAC conhecidos podem ser usados de acordo com a presente invenção. Exemplos não limitadores de inibidores de HDAC incluem Voninostat (Zolinza®); Romidepsina (Istodax®); Treicostatina A (TSA); Oxamflatina; Vorinostat (Zolinza®,

Suberoilanilida do ácido hidroxâmico); Piroxamida (siberoil-3-aminopiridinoamida do ácido hidroxâmico); Trapoxina A (RF-1023A); Trapoxina B (RF-10238); Ciclo[(αS,2S)-α-amino-η-oxo-2-oxirano-octanoil-O-metil-D-tirosil-L-isoleucil-L-prolila] (Cyl-1); Ciclo[(αS,2S)-α-amino-η-oxo-2-oxirano-octanoil-O-metil-D-tirosil-L-isoleucil-(2S)-2-piperidinocarbonila] (Cil-2); [L-alanil-D-alanil-(2S)-η-oxo-L-α-amino-oxirano-octanoil-D-prolila] Cíclica (toxina HC); Ciclo[(αS,2S)-α-amino-η-oxo-2-oxirano-octanoil-D-fenilalanil-L-leucil-(2S)-2-piperidinocarbonila] (WF-3161); Clamidocina ((S)-(2-metilalanil-L-fenilalanil-D-prolil-η-oxo-L-α-amino-oxirano-octanoíla) Cíclica; Apicidina (Ciclo(8-oxo-L-2-aminodecanoil-1-metóxi-L-triptofil-L-isoleucil-D-2-piperidinocarbonila); Romidepsina (Istodax®, FR-901228); 4-Fenilbutirato; Espirucostatina A; Milproína (Ácido valproico); Entinostat (MS-275, N-(2-Aminofenil)-4-[N-(piridino-3-il-metoxicarbonil)-amino-metil]-benzamida); Depudecina (4,5:8,9-dianidro-1,2,6,7,11-pentadesóxi-D-treo-D-ido-Undeca-1,6-dienitol); 4-(Acetilamino)-N-(2-aminofenil)-benzamida (também conhecido como CI-994); N1-(2-Aminofenil)-N8-fenil-octanodiamida (também conhecido como BML-210); 4-(Dimetilamino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxo-heptil)benzamida (também conhecido como M344); (E)-3-(4-(((2-(1H-indol-3-il)etil)(2-hidroxietil)amino)-metil)fenil)-N-hidroxiacrilamida (NVP-LAQ824); Panobinostat (Farydak®); Mocetinostat, e Belinostat.

Proteínas

[0336] Em alguma modalidade, o modulador de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) é uma proteína. Moduladores (por exemplo, inibidores) exemplificativos de proteínas são descritos abaixo.

Inibidores de IFN-γ

[0337] Em modalidades, um inibidor de IFN-γ é uma proteína que inibe ou reduz a expressão e/ou função de IFN-γ. Em um exemplo, um

inibidor de IFN-γ de acordo com a presente invenção é um anticorpo anti-IFN-γ ou seu fragmento, ou um anticorpo antirreceptor do IFN-γ ou seu fragmento. Ver, por exemplo, WO 2013/078378, WO 2011/061700, US 6.329.511, US 6.558.661 e US 4.897.264, aqui incorporados a título de referência na sua totalidade.

[0338] Em outro exemplo, um inibidor de IFN-γ de acordo com a presente invenção é receptor de IFN-γ ou seu fragmento, por exemplo, como descrito em WO 2011/061700, US 6.558.661 e US 7.608.430, aqui incorporados a título de referência na sua totalidade.

[0339] Em outro exemplo, um inibidor de IFN-γ de acordo com a presente invenção é IFN-γ, ou um fragmento de IFN-γ, modificado ou inativado, por exemplo, como descrito em US 5.451.658 e US 7.973.133, aqui incorporados a título de referência na sua totalidade.

[0340] Em outro exemplo, um inibidor de IFN-γ de acordo com a presente invenção é uma citocina que é um antagonista de IFN-γ, por exemplo, como descrito em US 5.612.195, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

[0341] Em outro exemplo, um inibidor de IFN-γ de acordo com a presente invenção é uma proteína BCRF1 que inibe ou reduz a produção de IFN-γ, por exemplo, como descrito em US 5.736.390, aqui incorporado a título de referência na sua totalidade.

Inibidores de NOTCH2

[0342] Em modalidades, um inibidor de NOTCH2 é uma proteína que inibe ou reduz a expressão e/ou função de NOTCH2. Em um exemplo, um inibidor de Notch2 de acordo com a presente invenção é um anticorpo anti-NOTCH2 ou seu fragmento, ver, por exemplo, WO 2014/141064, WO 2008/091641, US 7.919.092, US 8.226.943 e US 8.404.239, aqui incorporados a título de referência na sua totalidade.

Inibidores de IL2RA

[0343] Em modalidades, um inibidor de IL2RA é uma proteína que

inibe ou reduz a expressão e/ou função de IL2RA. Em um exemplo, um inibidor de IL2RA de acordo com a presente invenção é um anticorpo anti-IL2RA ou seu fragmento, ver, por exemplo, WO 1990/007861, WO 2000/030679, WO 2014/144935 e US 7.438.907, aqui incorporados a título de referência na sua totalidade. Anticorpos anti-IL2RA exemplificativos incluem Daclizumab, Basiliximab e BT563.

[0344] Em outro exemplo, um inibidor de IL2RA de acordo com a presente invenção é um antagonista peptídico de IL2RA, ver, por exemplo, US 5.635.597 e Emerson *et al.*, *Protein Sci.* 2003 abril;12(4):811-22, aqui incorporados a título de referência na sua totalidade.

Inibidores de PRDM1

[0345] Em modalidades, um inibidor de PRDM1 é uma proteína ou peptídeo que inibe ou reduz a expressão e/ou função de PRDM1. Em um exemplo, um inibidor de PRDM1 de acordo com a presente invenção é um anticorpo anti-PRDM1 ou seu fragmento. Em um exemplo, um inibidor de PRDM1 de acordo com a presente invenção é um peptídeo bloqueador que se liga a PRDM1.

Tet2 Negativo Dominante

[0346] De acordo com a presente invenção, isoformas negativas dominantes de Tet2, e ácido nucleico codificando o referido Tet2 negativo dominante, podem ser usados como inibidores de Tet2. Em modalidades, o Tet2 negativo dominante não tem função catalítica de Tet2. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação R1261G, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação R1262A, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em

SEQ ID Nº: 1357 com a mutação S1290A, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação WSMYYN (aminoácidos 1291-1296 de SEQ ID Nº: 1357) para GGSGGS (SEQ ID Nº: 67), de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação M1293A e Y1294A, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação Y1295A, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação S1303N, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação H1382Y, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação D1384A, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Um exemplo de um Tet2 negativo dominante é uma proteína compreendendo ou consistindo em SEQ ID Nº: 1357 com a mutação D1384V, de acordo com a numeração de SEQ ID Nº: 1357. Em modalidades, o Tet2 negativo dominante pode incluir combinações de quaisquer das mutações acima mencionadas. Tais mutações são adicionalmente descritas, por exemplo, em Chen *et al., Nature*, 493:561-564 (2013); Hu *et al, Cell*, 155:1545-1555 (2013), cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade.

Parceiros de ligação de Tet2 Negativo Dominante

[0347] Sem ficar restringido pela teoria, se crê que Tet2 interage, por exemplo, se liga, com um ou mais HDAC, por exemplo, um ou mais

HDAC expressos em células efetoras imunes, por exemplo, em células T, e que tais complexos Tet2:HDAC podem contribuir para a atividade de Tet2 na célula. Em modalidades, um inibidor de Tet2 da invenção é um parceiro de ligação de Tet2 negativo dominante, por exemplo, um HDAC de ligação a Tet2 negativo dominante. Em outras modalidades, um inibidor de Tet2 da invenção compreende ácido nucleico codificando um parceiro de ligação de Tet2 negativo dominante, por exemplo, um HDAC de ligação a Tet2 negativo dominante.

Vetores

[0348] Como descrito aqui, a invenção proporciona vetores, por exemplo, como descrito aqui, que codificam moduladores (por exemplo, inibidores) de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), tais como o sistemas de edição genética, shRNA ou siRNA inibidores, moduladores (por exemplo, inibidores) de molécula pequena, peptídeo ou proteína de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) (por exemplo, como descrito aqui).

[0349] Em modalidades também compreendendo, por exemplo, um CAR, o ácido nucleico pode adicionalmente compreender uma sequência codificando um CAR, por exemplo, como descrito aqui. Em algumas modalidades, a invenção proporciona um vetor compreendendo uma sequência de ácido nucleico codificando um inibidor de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) descrito aqui e compreendendo uma sequência de ácido nucleico codificando uma molécula CAR descrita aqui. Em modalidades, sequências de ácidos nucleicos são dispostas em vetores separados. Em outras modalidades, as duas ou mais sequências de ácidos nucleicos são codificadas por uma única molécula nucleica no mesmo

quadro e como uma única cadeia polipeptídica. Neste aspecto, os dois ou mais CARs podem, por exemplo, estar separados por um ou mais sítios de clivagem peptídica (por exemplo, um sítio de autoclivagem ou um substrato para uma protease intracelular). Exemplos de sítios de clivagem de peptídeos incluem os seguintes, nos quais os resíduos GSG são opcionais:

T2A: (GSG) E G R G S L L T C G D V E E N P G P (SEQ ID Nº: 68)

P2A: (GSG) A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (SEQ ID Nº: 69)

E2A: (GSG) Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID Nº: 70)

F2A: (GSG) V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID Nº: 71).

[0350] Estes sítios de clivagem peptídica são coletivamente referidos aqui como "sítios 2A". Em modalidades, o vetor compreende uma sequência de ácido nucleico codificando um CAR descrito aqui e sequência de ácido nucleico codificando um shRNA ou siRNA inibidor de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), descrito aqui. Em modalidades, o vetor compreende uma sequência de ácido nucleico codificando um CAR descrito aqui e sequência de ácido nucleico codificando um modulador (por exemplo, inibidor) de um sistema de edição do genoma (por exemplo, um sistema CRISPR/Cas) de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), descrito aqui.

Métodos de Uso de Moduladores

[0351] A invenção proporciona métodos para aumentar a eficácia terapêutica de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula expressando um CAR como descrito aqui, por exemplo, uma célula expressando CAR19 (por exemplo, CTL019 ou CTL119), compreendendo uma etapa de alterar a expressão e/ou função de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2).

[0352] Em certas modalidades, o método compreende reduzir ou eliminar a expressão e/ou função de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em outras modalidades, o método compreende aumentar ou ativar a expressão e/ou função de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em algumas modalidades, o método compreende contatar as referidas células com um modulador (por exemplo, um inibidor) de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), como descrito aqui. Em algumas modalidades, o método compreende decrescer o nível de 5-hidroximetilcitosina na referida célula.

[0353] A invenção também proporciona métodos de preparação de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula expressando CAR tendo função melhorada (por exemplo, tendo eficácia melhorada, por exemplo, abordagem seletiva de tumores ou proliferação tumoral) compreendendo a etapa de alterar (por exemplo, reduzir ou eliminar, ou aumentar ou ativar) a expressão ou função de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) na referida célula. Em modalidades, o método compreende contatar as referidas células com um modulador (por exemplo, um inibidor ou ativador) de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), como descrito aqui. Em algumas modalidades, o contato é efetuado *ex vivo.* Em algumas modalidades, o contato é efetuado *in vivo*. Em algumas modalidades, o contato é efetuado antes, simultaneamente ou após as referidas células serem modificadas para expressar um CAR, por exemplo, um CAR como descrito aqui.

[0354] Em modalidades, a invenção proporciona um método para alterar (por exemplo, inibir ou ativar) a expressão e/ou função de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) em uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula expressando um CAR como descrito aqui, por exemplo, uma célula expressando CAR19 (por exemplo, célula expressando CTL019 ou CTL119), o método compreendendo uma etapa de alterar (por exemplo, reduzir ou eliminar, ou aumentar ou ativar) a expressão e/ou função de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em modalidades, o método compreende contatar as referidas células com um modulador (por exemplo, um inibidor ou ativador) de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), como descrito aqui. Em algumas modalidades, o método compreende decrescer o nível de 5-hidroximetilcitosina na referida célula.

[0355] Em uma modalidade, a invenção proporciona um método, por exemplo, um método descrito acima, que compreende introduzir ácido nucleico codificando um CAR em uma célula, por exemplo, uma célula efetora imune, por exemplo, uma célula T, em um sítio dentro de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), ou seus elementos reguladores, de modo que a expressão de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) sofre disrupção. A integração em um sítio dentro de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2) pode ser alcançada, por exemplo, usando um sistema de edição genética visando um gene

associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), como descrito acima.

[0356] Em uma modalidade, a invenção proporciona um método, por exemplo, um método descrito acima, compreendendo uma etapa de introduzir em uma célula um sistema de edição genética, por exemplo, um sistema de edição genética CRISPR/Cas, que visa um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2), por exemplo, um sistema CRISPR/Cas compreendendo um gRNA que tem uma sequência de direcionamento complementar a uma sequência-alvo de um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em modalidades, o sistema CRISPR/Cas é introduzido na referida célula como um complexo proteico ribonuclear de gRNA e enzima Cas, por exemplo, é introduzido via eletroporação. Em uma modalidade, o método compreende introduzir ácido nucleico codificando um ou mais dos componentes do sistema CRISPR/Cas na referida célula. Em uma modalidade, o referido ácido nucleico é disposto no vetor codificando um CAR, por exemplo, um CAR como descrito aqui.

[0357] Em uma modalidade, a invenção proporciona um método, por exemplo, um método descrito acima, compreendendo uma etapa de introduzir na célula um dsRNA inibidor, por exemplo, um shRNA ou siRNA, que visa um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em uma modalidade, o método compreende introduzir na referida célula ácido nucleico codificando um dsRNA inibidor, por exemplo, um shRNA ou siRNA, que visa um gene associado a Tet (por exemplo, um gene associado a Tet2) e/ou um gene Tet (por exemplo, Tet1, Tet2 e/ou Tet3, por exemplo, Tet2). Em uma

modalidade, o referido ácido nucleico é disposto no vetor codificando um CAR, por exemplo, um CAR como descrito aqui.

[0358] Componentes adicionais de CARs e células T CAR, e métodos respeitantes à invenção, são descritos abaixo.

[0359] São proporcionadas aqui composições de matéria e métodos de uso para o tratamento de uma doença tal como câncer usando células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) manipuladas com CARs da invenção.

[0360] Em um aspecto, a invenção proporciona alguns receptores de antígenos quiméricos (CAR) compreendendo um domínio de ligação a antígenos (por exemplo, anticorpo ou fragmento de anticorpo, TCR ou fragmento de TCR) manipulado para ligação específica a um antígeno tumoral, por exemplo, um antígeno tumoral descrito aqui. Em um aspecto, a invenção proporciona uma célula efetora imune (por exemplo, célula T, célula NK) manipulada para expressar um CAR, em que a célula efetora imune manipulada exibe uma propriedade anticancerígena. Em um aspecto, uma célula é transformada com o CAR e o CAR é expresso na superfície da célula. Em algumas modalidades, a célula (por exemplo, célula T, célula NK) é transduzida com um vetor viral codificando um CAR. Em algumas modalidades, o vetor viral é um vetor retroviral. Em algumas modalidades, o vetor viral é um vetor lentiviral. Em algumas de tais modalidades, a célula pode expressar de modo estável o CAR. Em outra modalidade, a célula (por exemplo, célula T, célula NK) é transfectada com um ácido nucleico, por exemplo, mRNA, cDNA, DNA, codificando um CAR. Em algumas de tais modalidades, a célula pode expressar de modo transiente o CAR.

[0361] Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos de um CAR descrito aqui é um fragmento de anticorpo scFv. Em um aspecto, tais fragmentos de anticorpos são funcionais no sentido em que retêm a afinidade de ligação equivalente, por exemplo, se ligam ao mesmo

antígeno com afinidade comparável, à do anticorpo IgG de onde são derivados. Em outras modalidades, o fragmento de anticorpo tem uma afinidade de ligação menor, por exemplo, se liga ao mesmo antígeno com uma afinidade de ligação menor do que o anticorpo de onde é derivado, mas é funcional no sentido de que proporciona uma resposta biológica descrita aqui. Em uma modalidade, a molécula CAR compreende um fragmento de anticorpo que tem uma afinidade de ligação KD de 10^{-4} M até 10^{-8} M, por exemplo, 10^{-5} M até 10^{-7} M, por exemplo, 10^{-6} M ou 10^{-7} M, para o antígeno-alvo. Em uma modalidade, o fragmento de anticorpo tem uma afinidade de ligação que é pelo menos cinco vezes, 10 vezes, 20 vezes, 30 vezes, 50 vezes, 100 vezes ou 1 000 vezes menor do que a de um anticorpo de referência, por exemplo, um anticorpo descrito aqui.

[0362] Em um aspecto, tais fragmentos de anticorpos são funcionais no sentido de que proporcionam uma resposta biológica que pode incluir, mas não se limita a, ativação de uma resposta imune, inibição da origem da transdução do sinal a partir do seu antígeno-alvo, inibição da atividade de quinases e similares, como será entendido pelo perito.

[0363] Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos do CAR é um fragmento de anticorpo scFv que é humanizado em comparação com a sequência murina do scFv de onde é derivado.

[0364] Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos de um CAR da invenção (por exemplo, um scFv) é codificado por uma molécula de ácido nucleico cuja sequência foi otimizada quanto a códons para expressão em uma célula de mamífero. Em um aspecto, o construto de CAR completo da invenção é codificado por uma molécula de ácido nucleico cuja sequência completa foi otimizada quanto a códons para expressão em uma célula de mamífero. Otimização de códons se relaciona com a descoberta de que a frequência da

ocorrência de códons sinônimos (isto é, códons que codificam o mesmo aminoácido) em DNA codificador está distorcida em diferentes espécies. Tal degenerescência de códons permite que um polipeptídeo idêntico seja codificado por uma variedade de sequências de nucleotídeos. Uma variedade de métodos de otimização de códons é conhecida na técnica, e inclui, por exemplo, métodos revelados pelo menos nas Patentes US Números 5,786,464 e 6,114,148.

[0365] Em um aspecto, os CARs da invenção combinam um domínio de ligação a antígenos de um anticorpo específico com uma molécula de sinalização intracelular. Por exemplo, em alguns aspectos, a molécula de sinalização intracelular inclui, mas não se limita a, módulos de sinalização da cadeia CD3-zeta, 4-1BB e CD28 e suas combinações. Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos se liga a um antígeno tumoral como descrito aqui.

[0366] Adicionalmente, a presente invenção proporciona CARs e células expressando CAR e o seu uso em medicamentos ou métodos para tratar, entre outras doenças, câncer ou qualquer malignidade ou doenças autoimunes envolvendo células ou tecidos que expressam um antígeno tumoral como descrito aqui.

[0367] Em um aspecto, o CAR da invenção pode ser usado para erradicar uma célula normal que expressa um antígeno tumoral como descrito aqui, desse modo aplicável para uso como terapia de condicionamento celular antes da transplantação de células. Em um aspecto, a célula normal que expressa um antígeno tumoral como descrito aqui é uma célula-tronco normal e a transplantação de células é uma transplantação de células-tronco.

[0368] Em um aspecto, a invenção proporciona uma célula efetora imune (por exemplo, célula T, célula NK) manipulada para expressar um receptor de antígenos quimérico (CAR), em que a célula efetora imune manipulada exibe uma propriedade antitumoral. Um antígeno

preferencial é um antígeno associado a câncer (isto é, antígeno tumoral) descrito aqui. Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos do CAR compreende um fragmento de anticorpo parcialmente humanizado. Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos do CAR compreende um scFv parcialmente humanizado. Em conformidade, a invenção proporciona CARs que compreendem um domínio de ligação a antígenos humanizado e é manipulado em uma célula, por exemplo, uma célula T ou uma célula NK, e métodos do seu uso para terapia adotiva.

[0369] Em um aspecto, os CARs da invenção compreendem pelo menos um domínio intracelular selecionado do grupo de um domínio de sinalização de CD137 (4-1BB), um domínio de sinalização de CD28, um domínio de sinal de CD27, um domínio de sinal de CD3zeta, e qualquer combinação destes. Em um aspecto, os CARs da invenção compreendem pelo menos um domínio de sinalização intracelular que provém de uma ou mais moléculas coestimuladoras diferentes de um CD137 (4-1BB) ou CD28.

[0370] Sequências de alguns exemplos de vários componentes de CARs da presente invenção são listadas na Tabela 1, onde aa designa aminoácidos, e na designa ácidos nucleicos que codificam o peptídeo correspondente.

Tabela 1. Sequências de vários componentes de CAR (aa – aminoácidos, na – ácidos nucleicos que codificam a proteína correspondente)

SEQ ID N°	descrição	Sequência	Corresp. a huCD19
1	Promotor de EF-1	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTC CCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAG GTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTT TTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAAC GTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTG TGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTT GAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGG GTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTC	100

		GCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGC	
		GAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTA	
		GCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGA	
		TAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTG	
		GGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCG	
		AGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCA	
		AGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCC	
		CGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAA	
		AGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCG	
		GCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCT	
		TTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCG	
		TCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGG	
		TTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGG	
		AGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTT	
		GCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGT	
		TCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGA	
2	Líder (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP	13
3	Líder (na)	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTGCA TGCCGCTAGACCC	54
4	Dobradiça de CD 8 (aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD	14
5	Dobradiça de CD8 (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTC GCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCG CAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT	55
6	Dobradiça de Ig4 (aa)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM	102
7	Dobradiça de Ig4 (na)	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCT GGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGA TGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAG GAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA CAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGG TGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAA TACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAAC CATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGC CCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTG GTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGG CCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACG	103

		GCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAG GAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCA CTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG	
8	Dobradiça de IgD (aa)	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEK EEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLK DAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVT CTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSG FSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSP QPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH	47
9	Dobradiça de IgD (na)	AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACA GCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTA CGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAA GAAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATAC CCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGC TTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAG GATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGT TGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACT CAAGACTCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACA TGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAG AGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCA GTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGC TTTAGCCCGCCCAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGT GAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTA CCACATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCCC CAGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCT GCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT	48
10	Dobradiça/ligante de GS (aa)	GGGGSGGGGS	49
11	Dobradiça/ligante de GS (na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC	50
12	CD8TM (aa)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC	15
13	CD8 TM (na)	ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTC ACTGGTTATCACCCTTTACTGC	56
14	Domínio intracelular de 4-1BB (aa)	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	16

15	Domínio intracelular de 4-1BB (na)	AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAG ACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAG AAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG	60
16	CD27 (aa)	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP	51
17	CD27 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCC CCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCAC GCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC	52
18	CD3-zeta (aa)	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR	17
19	CD3-zeta (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCA GAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATG TTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGA AGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGAT GGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCA AGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACC TACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC	101
20	CD3-zeta (aa)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR	43
21	CD3-zeta (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCA G AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGT TT TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGG A AGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCG G AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGG C ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGAC GC CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC	44
22	ligante	GGGGS	18
23	ligante	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC	50
24	Domínio extracelu	Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrm spsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgt	

	lar de PD-1 (aa)	ylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlv
25	Domínio extracelular de PD-1 (na)	Cccggatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtc
26	CAR PD-1 (aa) com sinal	Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
27	CAR PD-1 (na)	Atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccggatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagttcagaccctggtcacgaccactccggcgccgcgcccaccgactccggcccaactatcgcgagccagcccctgtcgctgaggccggaagcatgccgccctgccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatgcgacatctacatttgggctcctctcgccggaacttgtggcgtgctccttctgtcccctggtcatcaccctgtactgcaagcggggtcggaaaaagcttctgtacatttcaagcagcccttcatgaggcccgtgcaaaccacccaggaggaggacggttgctcctgccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctcccggagcgccgacgcccccgcctataagcagggccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggccgggaccccgaaatgggcgggaagcctagaagaaagaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcctactccgaaattgggatgaagggagagcggcggaggggaaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccgccaccaaggacacatacgatgccctgcacatgcaggcccttcccccctcgc

28	ligante	(Gly-Gly-Gly-Ser)n, em que n = 1-10	105
29	ligante	(Gly4 Ser)4	106
30	ligante	(Gly4 Ser)3	107
31	ligante	(Gly3Ser)	108
32	poliA	aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

tttttt

tttttt

tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt
tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt

37 poliA aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 112
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

39 CAR (aa) PD1 Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrm spsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgt ylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlv tttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwa plagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscr fpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrr grdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdgl yqglstatkdtydalhmqalppr

Antígenos Associados a Câncer

[0371] A presente invenção proporciona células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para conterem um ou mais CARs que dirigem as células efetoras imunes para câncer. Tal é alcançado através de um domínio de ligação a antígenos no CAR que é específico para um antígeno associado a câncer. Há duas classes de antígenos associados a câncer (antígenos tumorais) que podem ser visados pelos CARs da presente invenção: (1) antígenos associados a câncer que são expressos na superfície de células cancerígenas; e (2) antígenos associados a câncer que são, eles próprios, intracelulares, no entanto, um fragmento de tal antígeno (peptídeo) é apresentado na superfície das células cancerígenas por MHC (complexo de histocompatibilidade principal).

[0372] Em conformidade, a presente invenção proporciona CARs que visam os seguintes antígenos associados a câncer (antígenos tumorais): CD19, CD123, CD22, CD30, CD171, CS-1, CLL-1 (CLECL1), CD33, EGFRvIII, GD2, GD3, BCMA, Tn Ag, PSMA, ROR1, FLT3, FAP, TAG72, CD38, CD44v6, CEA, EPCAM, B7H3, KIT, IL-13Ra2,

Mesotelina, IL-11Ra, PSCA, VEGFR2, LewisY, CD24, PDGFR-beta, PRSS21, SSEA-4, CD20, Receptor de folato alfa, ERBB2 (Her2/neu), MUC1, EGFR, NCAM, Prostase, PAP, ELF2M, Efrina B2, receptor de IGF-I, CAIX, LMP2, gp100, bcr-abl, tirosinase, EphA2, Fucosil GM1, sLe, GM3, TGS5, HMWMAA, o-acetil-GD2, Receptor de folato beta, TEM1/CD248, TEM7R, CLDN6, TSHR, GPRC5D, CXORF61, CD97, CD179a, ALK, Ácido polissiálico, PLAC1, GloboH, NY-BR-1, UPK2, HAVCR1, ADRB3, PANX3, GPR20, LY6K, OR51E2, TARP, WT1, NY-ESO-1, LAGE-1a, legumaína, HPV E6,E7, MAGE-A1, MAGE A1, ETV6-AML, proteína do esperma 17, XAGE1, Tie 2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, antígeno relacionado com Fos 1, p53, p53 mutante, prosteína, survivina e telomerase, PCTA-1/Galectina 8, MelanA/MART1, Ras mutante, hTERT, pontos de quebra de translocação de sarcoma, ML-IAP, ERG (gene de fusão TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, Receptor de andrógenos, Ciclina B1, MYCN, RhoC, TRP-2, CYP1B1, BORIS, SART3, PAX5, OY-TES1, LCK, AKAP-4, SSX2, RAGE-1, transcriptase reversa de telomerase humana, RU1, RU2, carboxil-esterase intestinal, hsp70-2 mut, CD79a, CD79b, CD72, LAIR1, FCAR, LILRA2, CD300LF, CLEC12A, BST2, EMR2, LY75, GPC3, FCRL5 e IGLL1.

Antígenos Suportando Tumores

[0373] Um CAR descrito aqui pode compreender um domínio de ligação a antígenos (por exemplo, anticorpo ou fragmento de anticorpo, TCR ou fragmento de TCR) que se liga a um antígeno suportando um tumor (por exemplo, um antígeno suportando um tumor como descrito aqui). Em algumas modalidades, o antígeno suportando um tumor é um antígeno presente em uma célula estromal ou uma célula supressora derivada de mieloide (MDSC). Células estromais podem secretar fatores de crescimento para promover a divisão de células no microambiente. Células MDSC podem inibir a proliferação e ativação de células T. Sem pretender ficar restringido pela teoria, em algumas

modalidades, as células expressando CAR destroem as células suportando um tumor, desse modo inibindo indiretamente o crescimento ou sobrevivência tumoral.

[0374] Em modalidades, o antígeno de células estromais é escolhido de um ou mais de: antígeno de células estromais da medula óssea 2 (BST2), proteína de ativação de fibroblastos (FAP) e tenascina. Em uma modalidade, o anticorpo específico para FAP é, compete pela ligação a, ou tem as mesmas CDRs do, sibrotuzumab. Em modalidades, o antígeno de MDSC é escolhido de um ou mais de: CD33, CD11b, C14, CD15 e CD66b. Em conformidade, em algumas modalidades, o antígeno suportando um tumor é escolhido de um ou mais de: antígeno de células estromais da medula óssea 2 (BST2), proteína de ativação de fibroblastos (FAP) ou tenascina, CD33, CD11b, C14, CD15 e CD66b.

Receptor de Antígenos Quimérico (CAR)

[0375] A presente invenção abrange um construto de DNA recombinante compreendendo sequências codificando um CAR, em que o CAR compreende um domínio de ligação a antígenos (por exemplo, anticorpo ou fragmento de anticorpo, TCR ou fragmento de TCR) que se liga especificamente a um antígeno associado a câncer descrito aqui, em que a sequência do domínio de ligação a antígenos é contígua com e está no mesmo quadro de leitura de uma sequência de ácido nucleico codificando um domínio de sinalização intracelular. O domínio de sinalização intracelular pode compreender um domínio de sinalização coestimulador e/ou um domínio de sinalização primário, por exemplo, uma cadeia zeta. O domínio de sinalização coestimulador se refere a uma porção do CAR compreendendo pelo menos uma porção do domínio intracelular de uma molécula coestimuladora.

[0376] Em aspectos específicos, um construto de CAR da invenção compreende um domínio de scFv, em que o scFv pode ser precedido de uma sequência líder opcional, tal como proporcionado em SEQ ID Nº:

2, e seguido de uma sequência de dobradiça opcional como proporcionado em SEQ ID Nº:4 ou SEQ ID Nº:6 ou SEQ ID Nº:8 ou SEQ ID Nº:10, uma região transmembrana como proporcionado em SEQ ID Nº:12, um domínio de sinalização intracelular que inclui SEQ ID Nº:14 ou SEQ ID Nº:16 e uma sequência CD3 zeta que inclui SEQ ID Nº:18 ou SEQ ID Nº:20, por exemplo, em que os domínios são contíguos com e estão no mesmo quadro de leitura para formar uma única proteína de fusão.

[0377] Em um aspecto, construtos CAR exemplificativos compreendem uma sequência líder opcional (por exemplo, uma sequência líder aqui descrita), um domínio de ligação a antígenos extracelular (por exemplo, um domínio de ligação a antígenos aqui descrito), uma dobradiça (por exemplo, uma região de dobradiça aqui descrita), um domínio de transmembrana (por exemplo, um domínio de transmembrana aqui descrito) e um domínio estimulador intracelular (por exemplo, um domínio estimulador intracelular aqui descrito). Em um aspecto, um construto de CAR exemplificativo compreende uma sequência líder opcional (por exemplo, uma sequência líder aqui descrita), um domínio de ligação a antígenos extracelular (por exemplo, um domínio de ligação a antígenos aqui descrito), uma dobradiça (por exemplo, uma região de dobradiça aqui descrita), um domínio de transmembrana (por exemplo, um domínio de transmembrana aqui descrito), um domínio de sinalização coestimulador intracelular (por exemplo, um domínio de sinalização coestimulador aqui descrito) e/ou um domínio de sinalização primário intracelular (por exemplo, um domínio de sinalização primário aqui descrito).

[0378] Uma sequência líder exemplificativa é proporcionada como SEQ ID Nº: 2. Uma sequência de dobradiça/espaçadora exemplificativa é proporcionada como SEQ ID Nº: 4 ou SEQ ID Nº:6 ou SEQ ID Nº:8 ou SEQ ID Nº:10. Uma sequência de domínio de transmembrana exemplificativa é proporcionada como SEQ ID Nº:12. Uma sequência

exemplificativa do domínio de sinalização intracelular da proteína 4-1BB é proporcionada como SEQ ID Nº: 14. Uma sequência exemplificativa do domínio de sinalização intracelular de CD27 é proporcionada como SEQ ID Nº:16. Uma sequência do domínio CD3zeta exemplificativa é proporcionada como SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº:20.

[0379] Em um aspecto, a presente invenção abrange um construto de ácido nucleico recombinante compreendendo uma molécula de ácido nucleico codificando um CAR, em que a molécula de ácido nucleico compreende a sequência de ácido nucleico codificando um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, descrito aqui, que é contíguo a e está no mesmo quadro de leitura de uma sequência de ácido nucleico codificando um domínio de sinalização intracelular.

[0380] Em um aspecto, a presente invenção abrange um construto de ácido nucleico recombinante compreendendo uma molécula de ácido nucleico codificando um CAR, em que a molécula de ácido nucleico compreende uma sequência de ácido nucleico codificando um domínio de ligação a antígenos, em que a sequência é contígua a e está no mesmo quadro de leitura da sequência de ácido nucleico codificando um domínio de sinalização intracelular. Um domínio de sinalização intracelular exemplificativo que pode ser usado no CAR inclui, mas não se limita a, um ou mais domínios de sinalização intracelulares, por exemplo, de CD3-zeta, CD28, CD27, 4-1BB e similares. Em alguns casos, o CAR pode compreender qualquer combinação de CD3-zeta, CD28, 4-1BB, e similares.

[0381] As sequências de ácido nucleico codificando as moléculas desejadas podem ser obtidas usando métodos recombinantes conhecidos na técnica, tais como, por exemplo, por rastreio de bibliotecas de células expressando a molécula de ácido nucleico, por derivação da molécula de ácido nucleico de um vetor que é conhecido por incluir aquela ou por isolamento diretamente a partir de células e

tecidos contendo aquela, usando técnicas comuns. Alternativamente, o ácido nucleico de interesse pode ser produzido sinteticamente, em vez de ser clonado.

[0382] A presente invenção inclui construtos de vetores retrovirais e lentivirais expressando um CAR que podem ser diretamente transduzidos em uma célula.

[0383] A presente invenção também inclui um construto de RNA que pode ser diretamente transfectado em uma célula. Um método para gerar mRNA para uso em transfecção envolve transcrição *in vitro* (IVT) de um modelo com iniciadores especialmente planejados, seguido de adição de poliA, para produzir um construto contendo sequências 3' e 5' não traduzidas ("UTR") (por exemplo, uma UTR 3' e/ou 5' descritas aqui), um "cap" 5' (por exemplo, um "cap" 5' descrito aqui) e/ou Sítio Interno de Entrada do Ribossomo (IRES) (por exemplo, um IRES descrito aqui), o ácido nucleico a ser expresso e uma cauda poliA, tipicamente com 50-2000 bases de comprimento (SEQ ID Nº:32). O RNA produzido deste modo pode transfectar eficientemente diferentes tipos de células. Em uma modalidade, o modelo inclui sequências para o CAR. Em uma modalidade, um vetor de RNA de CAR é transduzido em uma célula, por exemplo, uma célula T ou uma célula NK, por eletroporação.

Domínio de Ligação a Antígenos

[0384] Em um aspecto, o CAR da invenção compreende um elemento de ligação específico para um alvo também referido como um domínio de ligação a antígenos. A escolha da fração depende do tipo e número de ligantes que definem a superfície de uma célula-alvo. Por exemplo, o domínio de ligação a antígenos pode ser escolhido para reconhecer um ligante que atua como um marcador da superfície celular em células-alvo associadas a um estado de doença particular. Assim, exemplos de marcadores da superfície celular que podem atuar como

ligantes para o domínio de ligação a antígenos em um CAR da invenção incluem os associados a infecções virais, bacterianas e parasitárias, doença autoimune e células cancerígenas.

[0385] Em um aspecto, a resposta de células T mediada por CAR pode ser dirigida a um antígeno de interesse por manipulação de um domínio de ligação a antígenos que se liga especificamente a um antígeno desejado no CAR.

[0386] Em um aspecto, a porção do CAR que compreende o domínio de ligação a antígenos compreende um domínio de ligação a antígenos que visa um antígeno tumoral, por exemplo, um antígeno tumoral descrito aqui.

[0387] O domínio de ligação a antígenos pode ser qualquer domínio que se ligue ao antígeno incluindo, mas não se limitando a, um anticorpo monoclonal, um anticorpo policlonal, um anticorpo recombinante, um anticorpo humano, um anticorpo humanizado, e um seu fragmento funcional, incluindo, mas não se limitando a, um anticorpo de domínio único tal como um domínio variável de cadeia pesada (VH), um domínio variável de cadeia leve (VL) e um domínio variável (VHH) de nanocorpo derivado de camelídeo, e um esqueleto alternativo que é conhecido na técnica como atuando como domínio de ligação a antígenos, tal como um domínio de fibronectina recombinante, um receptor de células T (TCR), ou um seu fragmento, por exemplo, TCR de cadeia simples e similares. Em alguns casos, é benéfico que o domínio de ligação a antígenos seja derivado da mesma espécie na qual o CAR será em última instância usado. Por exemplo, para uso em humanos, poderá ser benéfico que o domínio de ligação a antígenos do CAR compreenda resíduos humanos ou humanizados para o domínio de ligação a antígenos de um anticorpo ou fragmento de anticorpo.

[0388] Em uma modalidade, o CAR CD19 é um CAR CD19 descrito na Pat. US No. 8,399,645; Pat. US Nº. 7,446,190; Xu *et al., Leuk*

Lymphoma. 2013 54(2):255-260(2012); Cruz *et al., Blood* 122(17):2965-2973 (2013); Brentjens *et al., Blood*, 118(18):4817-4828 (2011); Kochenderfer *et al., Blood* 116(20):4099-102 (2010); Kochenderfer *et al., Blood* 122 (25):4129-39(2013); ou *16th Annu Meet Am Soc Gen Cell Ther* (ASGCT) (15-18 de maio, Salt Lake City) 2013, Resumo 10 (cada um dos quais é incorporado aqui a título de referência na sua totalidade). Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD19 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um CAR, anticorpo ou seu fragmento de ligação a antígenos descrito, por exemplo, na publicação PCT WO2012/079000 (incorporada aqui a título de referência na sua totalidade). Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD19 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um CAR, anticorpo ou seu fragmento de ligação a antígenos descrito, por exemplo, na publicação PCT WO2014/153270; Kochenderfer, J.N. *et al.*, *J. Immunother*. 32 (7), 689-702 (2009); Kochenderfer, J.N., *et al., Blood*, 116 (20), 4099-4102 (2010); publicação PCT WO2014/031687; Bejcek, *Cancer Research*, 55, 2346-2351, 1995; ou Patente U.S. Nº. 7,446,190 (cada um dos quais é aqui incorporado a título de referência na sua totalidade).

[0389] Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos contra mesotelina é ou pode ser derivado de um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou VH e VL, de um anticorpo, fragmento de ligação a antígenos ou CAR descrito, por exemplo, na publicação PCT WO2015/090230 (em uma modalidade, o CAR é um CAR descrito em WO2015/090230, cujo conteúdo é incorporado aqui na sua totalidade). Em modalidades, o domínio de ligação a antígenos contra mesotelina é ou é derivado de uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFV ou VH e VL, de um anticorpo, fragmento de ligação a antígenos ou CAR descrito, por exemplo, na publicação PCT WO1997/025068, WO1999/028471, WO2005/014652,

WO2006/099141, WO2009/045957, WO2009/068204, WO2013/142034, WO2013/040557 ou WO2013/063419 (cada um dos quais é aqui incorporado a título de referência na sua totalidade).

[0390] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD123 é ou é derivado de uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou VH e VL, de um anticorpo, fragmento de ligação a antígenos ou CAR descrito, por exemplo, na publicação PCT WO2014/130635 (incorporada aqui a título de referência na sua totalidade). Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD123 é ou é derivado de uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou VH e VL, de um anticorpo, fragmento de ligação a antígenos ou CAR descrito, por exemplo, na publicação PCT WO2016/028896 (incorporada aqui a título de referência na sua totalidade); em modalidades, o CAR é um CAR descrito em WO2016/028896. Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD123 é ou é derivado de uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou VL e VH, de um anticorpo, fragmento de ligação a antígenos ou CAR descrito, por exemplo, na publicação PCT WO1997/024373, WO2008/127735 (por exemplo, um domínio de ligação a CD123 de 26292, 32701, 37716 ou 32703), WO2014/138805 (por exemplo, um domínio de ligação a CD123 de CSL362), WO2014/138819, WO2013/173820, WO2014/144622, WO2001/66139, WO2010/126066 (por exemplo, o domínio de ligação a CD123 de qualquer um de Old4, Old5, Old17, Old19, New102 ou Old6), WO2014/144622 ou US2009/0252742 (cada um dos quais é incorporado aqui a título de referência na sua totalidade).

[0391] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD22 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Haso *et al., Blood*, 121(7): 1165-1174 (2013); Wayne *et al., Clin Cancer Res* 16(6): 1894-1903

(2010); Kato *et al., Leuk Res* 37(1):83-88 (2013); Creative BioMart (creativebiomart.net): MOM-18047-S(P).

[0392] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CS-1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de Elotuzumab (BMS), ver, por exemplo, Tai *et al.*, 2008, *Blood* 112(4):1329-37; Tai *et al.*, 2007, *Blood*. 110(5):1656-63.

[0393] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CLL-1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs ou VH e VL, de um anticorpo, fragmento de ligação a antígenos ou CAR descrito, por exemplo, na publicação PCT WO2016/014535, cujo conteúdo é incorporado aqui na sua totalidade. Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CLL-1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo disponibilizado pela R&D, ebiosciences, Abcam, por exemplo, PE-CLL1-hu Cat# 353604 (BioLegend); e PE-CLL1 (CLEC12A) Cat# 562566 (BD).

[0394] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD33 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Bross *et al., Clin Cancer Res* 7(6):1490-1496 (2001) (Gemtuzumab Ozogamicina, hP67.6), Caron *et al., Cancer Res* 52(24):6761-6767 (1992) (Lintuzumab, HuM195), Lapusan *et al., Invest New Drugs* 30(3):1121-1131 (2012) (AVE9633), Aigner *et al., Leukemia* 27(5): 1107-1115 (2013) (AMG330, CD33 BiTE), Dutour *et al., Adv hematol* 2012:683065 (2012), e Pizzitola *et al., Leukemia* doi:10.1038/Lue.2014.62 (2014). Moléculas CAR exemplificativas que visam CD33 são descritas aqui, e são proporcionadas em WO2016/014576, por exemplo, na Tabela 2 de WO2016/014576 (incorporado a título de referência na sua totalidade).

[0395] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra GD2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs,

de um anticorpo descrito, por exemplo, em Mujoo *et al., Cancer Res.* 47(4):1098-1104 (1987); Cheung *et al., Cancer Res* 45(6):2642-2649 (1985), Cheung *et al., J Clin Oncol* 5(9):1430-1440 (1987), Cheung *et al., J Clin Oncol* 16(9):3053-3060 (1998), Handgretinger *et al., Cancer Immunol Immunother* 35(3):199-204 (1992). Em algumas modalidades, um domínio de ligação a antígenos contra GD2 é uma porção de ligação a antígenos de um anticorpo selecionado de mAb 14.18, 14G2a, ch14.18, hu14.18, 3F8, hu3F8, 3G6, 8B6, 60C3, 10B8, ME36.1 e 8H9, ver, por exemplo, WO2012033885, WO2013040371, WO2013192294, WO2013061273, WO2013123061, WO2013074916 e WO201385552. Em algumas modalidades, um domínio de ligação a antígenos contra GD2 é uma porção de ligação a antígenos de um anticorpo descrito na Publicação US Nº.: 20100150910 ou Publicação PCT Nº.: WO 2011160119.

[0396] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra BCMA é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em WO2012163805, WO200112812 e WO2003062401. Em modalidades, construtos CAR para BCMA exemplificativos adicionais são gerados usando um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou sequências VH e VL da Publicação PCT WO2012/0163805 (cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade). Em modalidades, construtos CAR para BCMA exemplificativos adicionais são gerados usando um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou sequências VH e VL da Publicação PCT WO2016/014565 (cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade). Em modalidades, construtos CAR para BCMA exemplificativos adicionais são gerados usando um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou sequências VH e VL da Publicação PCT WO2014/122144 (cujo conteúdo é deste modo

incorporado a título de referência na sua totalidade). Em modalidades, construtos CAR para BCMA exemplificativos adicionais são gerados usando as moléculas CAR, e/ou os domínios de ligação a BCMA (por exemplo, CDRs, scFv ou sequências VH e VL) da Publicação PCT WO2016/014789 (cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade). Em modalidades, construtos CAR para BCMA exemplificativos adicionais são gerados usando as moléculas CAR, e/ou os domínios de ligação a BCMA (por exemplo, CDRs, scFv ou sequências VH e VL) da Publicação PCT WO2014/089335 (cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade). Em modalidades, construtos CAR para BCMA exemplificativos adicionais são gerados usando as moléculas CAR, e/ou os domínios de ligação a BCMA (por exemplo, CDRs, scFv ou sequências VH e VL) da Publicação PCT WO2014/140248 (cujo conteúdo é deste modo incorporado a título de referência na sua totalidade).

[0397] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra o antígeno Tn é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US 2014/0178365, US8,440,798, Brooks *et al., PNAS* 107(22):10056-10061 (2010), e Stone *et al., OncoImmunology* 1(6):863-873(2012).

[0398] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra PSMA é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Parker *et al., Protein Expr Purif* 89(2):136-145 (2013), US 20110268656 (J591 ScFv); Frigerio *et al, European J Cancer* 49(9):2223-2232 (2013) (scFvD2B); WO 2006125481 (mAbs 3/A12, 3/E7 e 3/F11) e fragmentos de anticorpos de cadeia simples (scFv A5 e D7).

[0399] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra ROR1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Hudecek *et al., Clin Cancer*

Res 19(12):3153-3164 (2013); WO 2011159847, e US20130101607.

[0400] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra FLT3 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em WO2011076922, US5777084, EP0754230, US20090297529, e vários anticorpos de catálogos comerciais (R&D, eBiosciences, Abcam).

[0401] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra TAG72 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Hombach *et al., Gastroenterology* 113(4):1163-1170 (1997); e Abcam ab691.

[0402] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra FAP é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Ostermann *et al., Clinical Cancer Research* 14:4584-4592 (2008) (FAP5), Publicação de Pat. US No. 2009/0304718; sibrotuzumab (ver, por exemplo, Hofheinz *et al., Oncology Research and Treatment* 26(1), 2003); e Tran *et al., J Exp Med* 210(6):1125-1135 (2013).

[0403] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD38 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de daratumumab (ver, por exemplo, Groen *et al., Blood* 116(21):1261-1262 (2010)); MOR202 (ver, por exemplo, US 8.263.746), ou anticorpos descritos em US 8.362.211.

[0404] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD44v6 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Casucci *et al., Blood* 122(20):3461-3472 (2013).

[0405] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CEA é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Chmielewski *et al., Gastroenterology* 143(4):1095-1107 (2012).

[0406] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra EPCAM é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRS, de um anticorpo selecionado de MT110, Ab biespecífico para EpCAM-CD3 (ver, por exemplo, clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00635596); Edrecolomab; 3622W94; ING-1; e adecatumumab (MT201).

[0407] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra PRSS21 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito na Patente US Nº.: 8,080,650.

[0408] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra B7H3 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo MGA271 (Macrogenics).

[0409] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra KIT é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US7915391, US20120288506, e vários anticorpos de catálogos comerciais.

[0410] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra IL-13Ra2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em WO2008/146911, WO2004087758, vários anticorpos de catálogos comerciais e WO2004087758.

[0411] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD30 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US7090843 B1 e EP0805871.

[0412] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra GD3 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US7253263; US 8,207,308; US 20120276046; EP1013761; WO2005035577; e US6437098.

[0413] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD171 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo,

CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Hong *et al., J Immunother* 37(2):93-104 (2014).

[0414] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra IL-11Ra é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo disponibilizado pela Abcam (cat# ab55262) ou Novus Biologicals (cat# EPR5446). Em outra modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra IL-11Ra é um peptídeo, ver, por exemplo, Huang *et al., Cancer Res* 72(1):271-281 (2012).

[0415] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra PSCA é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Morgenroth *et al., Prostate* 67(10):1121-1131 (2007) (scFv 7F5); Nejatollahi *et al., J of Oncology* 2013(2013), artigo ID 839831 (scFv C5-II); e Publicação de Pat US No. 20090311181.

[0416] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra VEGFR2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Chinnasamy *et al., J Clin Invest* 120(11):3953-3968 (2010).

[0417] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra LewisY é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Kelly *et al., Cancer Biother Radiopharm* 23(4):411-423 (2008) (hu3S193 Ab (scFvs)); Dolezal *et al., Protein Engineering* 16(1):47-56 (2003) (NC10 scFv).

[0418] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD24 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Maliar *et al., Gastroenterology* 143(5):1375-1384 (2012).

[0419] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra PDGFR-beta é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo Abcam ab32570.

[0420] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra SSEA-4 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo MC813 (Cell Signaling) ou outros anticorpos comercialmente disponíveis.

[0421] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD20 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo Rituximab, Ofatumumab, Ocrelizumab, Veltuzumab ou GA101.

[0422] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra o Receptor de folato alfa é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo IMGN853 ou um anticorpo descrito em US20120009181; US4851332, LK26: US5952484.

[0423] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra ERBB2 (Her2/neu) é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo trastuzumab ou pertuzumab.

[0424] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra MUC1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo SAR566658.

[0425] Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos contra EGFR é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo cetuximab, panitumumab, zalutumumab, nimotuzumab ou matuzumab. Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos contra EGFRvIII é ou pode ser derivado de um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, scFv ou VH e VL, de um anticorpo, fragmento de ligação a antígenos ou CAR descrito, por exemplo, na publicação PCT WO2014/130657 (em uma modalidade, o CAR é um CAR descrito em WO2014/130657, cujo conteúdo é incorporado aqui na sua totalidade).

[0426] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra NCAM é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo clone 2-2B: MAB5324 (EMD Millipore).

[0427] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra Efrina B2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Abengozar *et al., Blood* 119(19):4565-4576 (2012).

[0428] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra o receptor de IGF-I é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US8344112 B2; EP2322550 A1; WO 2006/138315, ou PCT/US2006/022995.

[0429] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CAIX é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo clone 303123 (R&D Systems).

[0430] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra LMP2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US 7.410.640 ou US20050129701.

[0431] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra gp100 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo HMB45, NKIbetaB, ou um anticorpo descrito em WO2013165940 ou US20130295007.

[0432] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra tirosinase é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US5843674; ou US19950504048.

[0433] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra EphA2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Yu *et al., Mol Ther* 22(1):102-111 (2014).

[0434] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra GD3 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US7253263; US 8,207,308; US 20120276046; EP1013761 A3; 20120276046; WO2005035577; ou US6437098.

[0435] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra fucosil GM1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US20100297138; ou WO2007/067992.

[0436] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra sLe é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo G193 (para Lewis Y), ver Scott AM *et al, Cancer Res* 60: 3254-61 (2000), também como descrito em Neeson *et al, J Immunol* maio de 2013 190 (*Meeting Abstract Supplement*) 177.10.

[0437] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra GM3 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo CA 2523449 (mAb 14F7).

[0438] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra HMWMAA é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Kmiecik *et al., Oncoimmunology* 3(1):e27185 (2014) (PMID: 24575382) (mAb9.2.27); US6528481; WO2010033866; ou US 20140004124.

[0439] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra o-acetil-GD2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo 8B6.

[0440] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra TEM1/CD248 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Marty *et al., Cancer Lett* 235(2):298-308 (2006); Zhao *et al., J Immunol Methods* 363(2):221-232 (2011).

[0441] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CLDN6 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo IMAB027 (Ganymed Pharmaceuticals), ver, por exemplo, clinicaltrial.gov/show/NCT02054351.

[0442] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos

contra TSHR é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US 8.603.466; US 8.501.415; ou US 8.309.693.

[0443] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra GPRC5D é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo FAB6300A (R&D Systems); ou LS-A4180 (Lifespan Biosciences).

[0444] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD97 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em US 6.846.911; de Groot *et al., J Immunol* 183(6):4127-4134 (2009); ou um anticorpo de R&D:MAB3734.

[0445] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra ALK é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Mino-Kenudson *et al., Clin Cancer Res* 16(5):1561-1571 (2010).

[0446] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra ácido polissiálico é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Nagae *et al., J Biol Chem* 288(47):33784-33796 (2013).

[0447] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra PLAC1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Ghods *et al., Biotechnol Appl Biochem* 2013 doi:10.1002/bab.1177.

[0448] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra GloboH é uma porção de ligação a antígenos do anticorpo VK9; ou um anticorpo descrito, por exemplo, em Kudryashov V *et al, Glycoconj J.* 15(3):243-9 (1998), Lou *et al., Proc Natl Acad Sci USA* 111(7):2482-2487 (2014); MBr1: Bremer E-G *et al. J Biol Chem* 259:14773–14777 (1984).

[0449] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra NY-BR-1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo,

CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Jager *et al., Appl Immunohistochem Mol Morphol* 15(1):77-83 (2007).

[0450] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra WT-1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Dao *et al., Sci Transl Med* 5(176):176ra33 (2013); ou WO2012/135854.

[0451] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra MAGE-A1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Willemsen *et al., J Immunol* 174(12):7853-7858 (2005) (scFv do tipo TCR).

[0452] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra a proteína do esperma 17 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Song *et al., Target Oncol* 14 de agosto de 2013 (PMID: 23943313); Song *et al., Med Oncol* 29(4):2923-2931 (2012).

[0453] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra Tie 2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo AB33 (Cell Signaling Technology).

[0454] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra MAD-CT-2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em PMID: 2450952; US7635753.

[0455] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra o antígeno relacionado com Fos 1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo 12F9 (Novus Biologicals).

[0456] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra MelanA/MART1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito em EP2514766 A2; ou US 7,749,719.

[0457] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos

contra pontos de quebra de translocação de sarcoma é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Luo *et al, EMBO Mol. Med*. 4(6):453-461 (2012).

[0458] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra TRP-2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Wang *et al, J Exp Med*. 184(6):2207-16 (1996).

[0459] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CYP1B1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, de um anticorpo descrito, por exemplo, em Maecker *et al, Blood* 102 (9): 3287-3294 (2003).

[0460] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra RAGE-1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo MAB5328 (EMD Millipore).

[0461] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra transcriptase reversa de telomerase humana é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo cat no: LS-B95-100 (Lifespan Biosciences).

[0462] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra carboxil-esterase intestinal é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo 4F12: cat no: LS-B6190-50 (Lifespan Biosciences).

[0463] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra mut hsp70-2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo Lifespan Biosciences: monoclonal: cat no: LS-C133261-100 (Lifespan Biosciences).

[0464] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD79a é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo Anti-CD79a [HM47/A9] (ab3121), disponibilizado pela Abcam; Anticorpo CD79A #3351 disponibilizado pela Cell

Signalling Technology; ou anticorpo HPA017748 - anticorpo Anti-CD79A produzido em coelhos, disponibilizado pela Sigma Aldrich.

[0465] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD79b é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo polatuzumab vedotin, anti-CD79b descrito em Dornan *et al.*, "Therapeutic potential of an anti-CD79b antibody-drug conjugate, anti-CD79b-vc-MMAE, for the treatment of non-Hodgkin lymphoma" *Blood*. 24 de setembro de 2009;114(13):2721-9. doi: 10.1182/blood-2009-02-205500. Epub 2009 24 de julho, ou o anticorpo biespecífico Anti-CD79b/CD3 descrito em "4507 Pre-Clinical Characterization of T Cell-Dependent Bispecific Antibody Anti-CD79b/CD3 As a Potential Therapy for B Cell Malignancies" Resumos do *56th ASH Annual Meeting and Exposition*, San Francisco, CA 6-9 de dezembro de 2014.

[0466] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD72 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo J3-109 descrito em Myers, e Uckun, "An anti-CD72 immunotoxin against therapy-refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia". *Leuk Lymphoma*. 1995 junho;18(1-2):119-22, ou anti-CD72 (10D6.8.1, mIgG1) descrito em Polson *et al.*, "Antibody-Drug Conjugates for the Treatment of Non–Hodgkin's Lymphoma: Target and Linker-Drug Selection" *Cancer Res* 15 de março, 2009 69; 2358.

[0467] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra LAIR1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo ANT-301 LAIR1, disponibilizado pela ProSpec; ou Anticorpo anti-CD305 humano (LAIR1), disponibilizado pela BioLegend.

[0468] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra FCAR é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do Anticorpo CD89/FCAR (Catálogo#10414-H08H), disponibilizado pela Sino Biological Inc.

[0469] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra LILRA2 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo monoclonal para LILRA2 (M17), clone 3C7, disponibilizado pela Abnova, ou anticorpo Anti-LILRA2 de Camundongo, Monoclonal (2D7), disponibilizado pela Lifespan Biosciences.

[0470] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CD300LF é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo molécula do tipo Anti-CMRF35 de Camundongo 1, Monoclonal [UP-D2], disponibilizado pela BioLegend, ou anticorpo molécula do tipo Anti-CMRF35 de Rato 1, Monoclonal [234903], disponibilizado pela R&D Systems.

[0471] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra CLEC12A é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo scFv Engajador Biespecífico de células T (BiTE) e ADC descrito em Noordhuis *et al.*, "Targeting of CLEC12A In Acute Myeloid Leukemia by Antibody-Drug-Conjugates and Bispecific CLL-1xCD3 BiTE Antibody" *53rd ASH Annual Meeting and Exposition*, 10-13 de dezembro, 2011, e MCLA-117 (Merus).

[0472] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra BST2 (também denominado CD317) é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo Anti-CD317 de Camundongo, Monoclonal [3H4], disponibilizado pela Antibodies-Online ou anticorpo Anti-CD317 de Camundongo, Monoclonal [696739], disponibilizado pela R&D Systems.

[0473] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra EMR2 (também denominado CD312) é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo Anti-CD312 de Camundongo, Monoclonal [LS-B8033] disponibilizado pela Lifespan Biosciences, ou anticorpo Anti-CD312 de Camundongo, Monoclonal [494025] disponibilizado pela R&D Systems.

[0474] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra LY75 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo Anti-Antígeno linfocitário 75 de Camundongo, Monoclonal [HD30] disponibilizado pela EMD Millipore ou anticorpo Anti-Antígeno linfocitário 75 de Camundongo, Monoclonal [A15797] disponibilizado pela Life Technologies.

[0475] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra GPC3 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo hGC33 descrito em Nakano K, Ishiguro T, Konishi H, *et al.* "Generation of a humanized anti-glypican 3 antibody by CDR grafting and stability optimization". *Anticancer Drugs*. 2010 novembro; 21(10):907–916, ou MDX-1414, HN3 ou YP7, em que os três são descritos em Feng *et al.*, "Glypican-3 antibodies: a new therapeutic target for liver cancer". *FEBS Lett*. 2014 21 de janeiro; 588(2):377-82.

[0476] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra FCRL5 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo anti-FcRL5 descrito em Elkins *et al.*, "FcRL5 as a target of antibody-drug conjugates for the treatment of multiple myeloma" *Mol Cancer Ther.* 2012 outubro;11(10):2222-32.

[0477] Em uma modalidade, um domínio de ligação a antígenos contra IGLL1 é uma porção de ligação a antígenos, por exemplo, CDRs, do anticorpo polipeptídeo do tipo Anti-Imunoglobulina lambda 1 de Camundongo, Monoclonal [AT1G4] disponibilizado pela Lifespan Biosciences, anticorpo polipeptídeo do tipo Anti-Imunoglobulina lambda 1 de Camundongo, Monoclonal [HSL11] disponibilizado pela BioLegend.

[0478] Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos compreende uma, duas, três (por exemplo, as três) CDRs de cadeia pesada, HC CDR1, HC CDR2 e HC CDR3, de um anticorpo listado acima, e/ou uma, duas, três (por exemplo, as três) CDRs de cadeia leve, LC CDR1, LC CDR2 e LC CDR3, de um anticorpo listado acima. Em

uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos compreende uma região variável de cadeia pesada e/ou uma região variável de cadeia leve de um anticorpo listado acima.

[0479] Em outro aspecto, o domínio de ligação a antígenos compreende um anticorpo ou um fragmento de anticorpo humanizado. Em alguns aspectos, um anticorpo não humano é humanizado, em que sequências ou regiões específicas do anticorpo são modificadas para aumentar a similaridade com um anticorpo naturalmente produzido em um humano ou seu fragmento. Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos é humanizado.

[0480] Um anticorpo humanizado pode ser produzido usando uma variedade de técnicas conhecidas na técnica, incluindo, mas não se limitando a, enxertia de CDR (ver, por exemplo, Patente Europeia Nº. EP 239,400; Publicação Internacional Nº. WO 91/09967; e Pat. U.S. Nºs. 5.225.539, 5.530.101, e 5.585.089, cada um dos quais é incorporado aqui na sua totalidade por referência), mascaramento ou mutação de resíduos superficiais (ver, por exemplo, Patentes Europeias Nºs. EP 592,106 e EP 519,596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28(4/5):489-498; Studnicka *et al.*, 1994, *Protein Engineering*, 7(6):805-814; e Roguska *et al.*, 1994, *PNAS*, 91:969-973, cada um dos quais é incorporado aqui na sua totalidade por referência), embaralhamento de cadeias (ver, por exemplo, Pat. U.S. Nº. 5,565,332, que é incorporado aqui na sua totalidade a título de referência), e técnicas reveladas, por exemplo, na Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº. US2005/0042664, Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº. US2005/0048617, Pat. U.S. Nº 6.407.213, Pat. U.S. Nº. 5,766,886, Publicação Internacional Nº. WO 9317105, Tan *et al., J. Immunol.*, 169:1119-25 (2002), Caldas *et al., Protein Eng.*, 13(5):353-60 (2000), Morea *et al., Methods*, 20(3):267-79 (2000), Baca *et al., J. Biol. Chem.*, 272(16):10678-84 (1997), Roguska *et al., Protein Eng.*, 9(10):895-904

(1996), Couto *et al., Cancer Res.*, 55 (23 Sup):5973s-5977s (1995), Couto *et al., Cancer Res.*, 55(8):1717-22 (1995), Sandhu J S, *Gene*, 150(2):409-10 (1994), e Pedersen *et al., J. Mol. Biol.*, 235(3):959-73 (1994), cada um dos quais é incorporado aqui na sua totalidade por referência. Frequentemente, resíduos de arcabouço nas regiões de arcabouço serão substituídos pelo resíduo correspondente do anticorpo doador de CDR para alterar, por exemplo, melhorar, a ligação a antígenos. Estas substituições de arcabouço são identificadas por métodos bem conhecidos na técnica, por exemplo, por modelagem das interações dos resíduos de CDR e arcabouço, para identificar resíduos de arcabouço importantes para a ligação a antígenos, e comparação de sequências, para identificar resíduos de arcabouço invulgares em posições particulares. (Ver, por exemplo, Queen *et al.*, Pat. U.S. Nº. 5.585.089; e Riechmann *et al.*, 1988, *Nature*, 332:323, que são incorporados aqui por referência na sua totalidade).

[0481] Um anticorpo ou fragmento de anticorpo humanizado tem um ou mais resíduos de aminoácidos que aí permanecem de uma fonte que não é humana. Estes resíduos de aminoácidos não humanos são muitas vezes referidos como resíduos "importados", que são tipicamente recolhidos de um domínio variável "importado". Como proporcionado aqui, anticorpos ou fragmentos de anticorpos humanizados compreendem uma ou mais CDRs de moléculas de imunoglobulinas e regiões arcabouço não humanas em que os resíduos de aminoácidos compreendendo o arcabouço são derivados completa ou majoritariamente da linha germinativa humana. Múltiplas técnicas para a humanização de anticorpos ou fragmentos de anticorpos são bem conhecidas na técnica e podem ser essencialmente realizadas seguindo o método de Winter e colaboradores (Jones *et al., Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al., Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen *et al., Science*, 239:1534-1536 (1988)), por substituição de CDRs ou

sequências de CDR de roedor pelas sequências correspondentes de um anticorpo humano, isto é, enxertia de CDR (EP 239,400; Publicação PCT Nº. WO 91/09967; e Pat. U.S. Nºs. 4.816.567; 6.331.415; 5.225.539; 5.530.101; 5.585.089; 6.548.640, cujo conteúdo é incorporado aqui por referência aqui na sua totalidade). Em tais anticorpos e fragmentos de anticorpos humanizados, substancialmente menos do que um domínio variável humano intato foi substituído pela sequência correspondente de uma espécie não humana. Anticorpos humanizados são muitas vezes anticorpos humanos nos quais alguns resíduos de CDR e possivelmente alguns resíduos de arcabouço (FR) estão substituídos por resíduos de sítios análogos em anticorpos de roedor. A humanização de anticorpos e fragmentos de anticorpos também pode ser alcançada por mascaramento ou mutação de resíduos superficiais (EP 592,106; EP 519,596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28(4/5):489-498; Studnicka *et al., Protein Engineering*, 7(6):805-814 (1994); e Roguska *et al., PNAS*, 91:969-973 (1994)) ou embaralhamento de cadeias (Pat. U.S. Nº. 5,565,332), cujo conteúdo é incorporado aqui por referência aqui na sua totalidade.

[0482] A escolha de domínios variáveis humanos, leves e pesados, a serem usados na preparação dos anticorpos humanizados se destina a reduzir a antigenicidade. De acordo com o denominado método "do melhor ajustamento", a sequência do domínio variável de um anticorpo de roedor é rastreada contra a biblioteca completa de sequências de domínio variável humanas conhecidas. A sequência humana que é mais próxima da do roedor é então aceite como arcabouço (FR) humano para o anticorpo humanizado (Sims *et al., J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia *et al., J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987), cujo conteúdo é incorporado aqui por referência na sua totalidade). Outro método usa um arcabouço particular derivado da sequência de consenso de todos os anticorpos humanos de um subgrupo particular de cadeias leves ou pesadas. O

mesmo arcabouço pode ser usado para vários anticorpos humanizados diferentes (ver, por exemplo, Nicholson *et al. Mol. Immun.* 34 (16-17): 1157-1165 (1997); Carter *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta *et al., J. Immunol.*, 151:2623 (1993), cujo conteúdo é incorporado aqui a título de referência na sua totalidade). Em algumas modalidades, a região de arcabouço, por exemplo, as quatro regiões de arcabouço, da região variável de cadeia pesada são derivadas de uma sequência VH4_4-59 da linha germinativa. Em uma modalidade, a região de arcabouço pode compreender uma, duas, três, quatro ou cinco modificações, por exemplo, substituições, por exemplo, do aminoácido na sequência murina correspondente. Em uma modalidade, a região de arcabouço, por exemplo, as quatro regiões de arcabouço da região variável de cadeia leve são derivadas de uma sequência VK3_1.25 da linha germinativa. Em uma modalidade, a região de arcabouço pode compreender uma, duas, três, quatro ou cinco modificações, por exemplo, substituições, por exemplo, do aminoácido na sequência murina correspondente.

[0483] Em alguns aspectos, a porção de uma composição de CAR da invenção que compreende um fragmento de anticorpo é humanizada com retenção de elevada afinidade para o antígeno-alvo e outras propriedades biológicas favoráveis. De acordo com um aspecto da invenção, anticorpos e fragmentos de anticorpos humanizados são preparados por um processo de análise das sequências paternas e vários produtos humanizados conceptuais usando modelos tridimensionais das sequências paternas e humanizadas. Modelos tridimensionais de imunoglobulinas estão correntemente disponíveis e são familiares aos peritos na técnica. Estão disponíveis programas computacionais que ilustram e exibem estruturas conformacionais tridimensionais prováveis de sequências de imunoglobulinas candidatas selecionadas. A inspeção destas

exibições permite análise do papel provável dos resíduos no funcionamento da sequência de imunoglobulina candidata, por exemplo, a análise de resíduos que influenciam a capacidade da imunoglobulina candidata para se ligar ao antígeno-alvo. Deste modo, resíduos de FR podem ser selecionados e combinados a partir das sequências recebedoras e importadas de modo que a característica desejada do anticorpo ou fragmento de anticorpo, tal como afinidade aumentada para o antígeno-alvo, seja alcançada. Em geral, os resíduos de CDR estão diretamente e muito substancialmente envolvidos em influenciar a ligação a antígenos.

[0484] Um anticorpo ou fragmento de anticorpo humanizado pode reter uma especificidade antigênica similar à do anticorpo original, por exemplo, na presente invenção, a capacidade para se ligar a um antígeno associado a câncer humano como descrito aqui. Em algumas modalidades, um anticorpo ou fragmento de anticorpo humanizado pode ter afinidade e/ou especificidade melhorada de ligação a um antígeno associado a câncer humano como descrito aqui.

[0485] Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos da invenção é caracterizado por aspectos ou propriedades funcionais particulares de um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Por exemplo, em um aspecto, a porção de uma composição de CAR da invenção que compreende um domínio de ligação a antígenos se liga especificamente a um antígeno tumoral como descrito aqui.

[0486] Em um aspecto, o domínio de ligação de anti-antígeno associado a câncer como descrito aqui é um fragmento, por exemplo, um fragmento variável de cadeia simples (scFv). Em um aspecto, o domínio de ligação de anti-antígeno associado a câncer como descrito aqui é um Fv, um Fab, um (Fab')2 ou um anticorpo híbrido bifuncional (por exemplo, biespecífico) (por exemplo, Lanzavecchia *et al., Eur. J. Immunol.* 17, 105 (1987)). Em um aspecto, os anticorpos e seus

fragmentos da invenção se ligam a uma proteína de antígeno associado a câncer como descrito aqui com afinidade de tipo selvagem ou intensificada.

[0487] Em alguns casos, scFvs podem ser preparados de acordo com um método conhecido na técnica (ver, por exemplo, Bird *et al.*, (1988) *Science* 242:423-426 e Huston *et al.*, (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Moléculas scFv podem ser produzidas por ligação em conjunto de regiões VH e VL usando ligantes polipeptídicos flexíveis. As moléculas scFv compreendem um ligante (por exemplo, um ligante Ser-Gly) com um comprimento e/ou composição de aminoácidos otimizados. O comprimento do ligante pode afetar muito o modo como as regiões variáveis de um scFv se dobram e interagem. De fato, se for empregue um ligante polipeptídico curto (por exemplo, entre 5-10 aminoácidos), o dobramento intracadeias é prevenido. O dobramento intracadeias também é requerido para unir as duas regiões variáveis de modo a formarem um sítio de ligação de epítopos funcional. Quanto a exemplos da orientação e tamanho de ligantes ver, por exemplo, Hollinger *et al.* 1993 *Proc Natl Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-6448, Publicações de Pedidos de Patentes U.S. Nºs. 2005/0100543, 2005/0175606, 2007/0014794, e publicações PCT Nos. WO2006/020258 e WO2007/024715, são incorporados aqui por referência.

[0488] Um scFv pode compreender um ligante de pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 ou mais resíduos de aminoácidos entre as suas regiões VL e VH. A sequência do ligante pode compreender qualquer aminoácido de ocorrência natural. Em algumas modalidades, a sequência do ligante compreende os aminoácidos glicina e serina. Em outra modalidade, a sequência do ligante compreende conjuntos de repetições de glicina e serina tais como $(Gly_4Ser)n$, onde n é um número inteiro positivo igual

ou maior do que 1 (SEQ ID Nº:22). Em uma modalidade, o ligante pode ser $(Gly_4Ser)_4$ (SEQ ID Nº:29) ou $(Gly_4Ser)_3$ (SEQ ID Nº:30). Uma variação do comprimento do ligante pode reter ou intensificar a atividade, dando origem a eficácia superior em estudos de atividade.

[0489] Em outro aspecto, o domínio de ligação a antígenos é um receptor de células T ("TCR") ou um seu fragmento, por exemplo, um TCR de cadeia simples (scTCR). Métodos para preparar tais TCRs são conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, Willemsen RA *et al, Gene Therapy* 7: 1369–1377 (2000); Zhang T *et al., Cancer Gene Ther* 11: 487–496 (2004); Aggen *et al., Gene Ther.* 19(4):365-74 (2012) (as referências são incorporadas aqui na sua totalidade). Por exemplo, scTCR pode ser manipulado de modo a conter os genes Vα e Vβ de um clone de célula T ligados por um ligante (por exemplo, um peptídeo flexível). Esta abordagem é muito útil para um alvo associado a câncer em que o próprio é intracelular, no entanto, um fragmento de tal antígeno (peptídeo) é apresentado na superfície das células cancerígenas por MHC.

CARs biespecíficos

[0490] Em uma modalidade, uma molécula de anticorpo multiespecífica é uma molécula de anticorpo biespecífica. Um anticorpo biespecífico tem especificidade para não mais do que dois antígenos. Uma molécula de anticorpo biespecífica é caracterizada por uma primeira sequência de domínio variável de imunoglobulina que tem especificidade de ligação para um primeiro epítopo e uma segunda sequência de domínio variável de imunoglobulina que tem especificidade de ligação para um segundo epítopo. Em uma modalidade, os primeiro e segundo epítopos estão no mesmo antígeno, por exemplo, a mesma proteína (ou subunidade de uma proteína multimérica). Em uma modalidade, os primeiro e segundo epítopos se sobrepõem. Em uma modalidade, os primeiro e segundo epítopos não

se sobrepõem. Em uma modalidade, os primeiro e segundo epítopos estão em diferentes antígenos, por exemplo, proteínas diferentes (ou subunidades diferentes de uma proteína multimérica). Em uma modalidade, uma molécula de anticorpo biespecífica compreende uma sequência de domínio variável de cadeia pesada e uma sequência de domínio variável de cadeia leve que têm especificidade de ligação para um primeiro epítopo e uma sequência de domínio variável de cadeia pesada e uma sequência de domínio variável de cadeia leve que têm especificidade de ligação para um segundo epítopo. Em uma modalidade, uma molécula de anticorpo biespecífica compreende metade de um anticorpo tendo especificidade de ligação para um primeiro epítopo e metade de um anticorpo tendo especificidade de ligação para um segundo epítopo. Em uma modalidade, uma molécula de anticorpo biespecífica compreende metade de um anticorpo ou seu fragmento, tendo especificidade de ligação para um primeiro epítopo e metade de um anticorpo ou seu fragmento, tendo especificidade de ligação para um segundo epítopo. Em uma modalidade, uma molécula de anticorpo biespecífica compreende um scFv ou seu fragmento, tendo especificidade de ligação para um primeiro epítopo e um scFV ou seu fragmento, tendo especificidade de ligação para um segundo epítopo.

[0491] Em certas modalidades, a molécula de anticorpo é uma molécula de anticorpo multiespecífica (por exemplo, biespecífica ou triespecífica). Protocolos para gerar moléculas de anticorpo biespecíficas ou heterodiméricas são conhecidos na técnica; incluindo, mas não se limitando a, por exemplo, a abordagem "manípulo em orifícios" descrita em, por exemplo, US 5731168; o emparelhamento Fc de direção eletrostática conforme descrito em, por exemplo, WO 09/089004, WO 06/106905 e WO 2010/129304; formação de heterodímeros por Domínios Manipulados de Troca de Cadeia (Strand Exchange Engineered Domains - SEED) conforme descrito em, por

exemplo, WO 07/110205; troca de braços de Fab conforme descrito em, por exemplo, WO 08/119353, WO 2011/131746 e WO 2013/060867; conjugado de anticorpo duplo, por exemplo, por reticulação de anticorpo para gerar uma estrutura biespecífica usando um reagente heterobifuncional tendo um grupo aminorreativo e um grupo sulfidril-reativo conforme descrito em, por exemplo, US 4433059; determinantes de anticorpo biespecíficos gerados recombinando metades de anticorpos (pares de cadeia pesada-leve ou Fabs) de diferentes anticorpos através do ciclo de redução e oxidação de ligações dissulfeto entre as duas cadeias pesadas, conforme descrito em, por exemplo, US 4444878; anticorpos trifuncionais, por exemplo, três fragmentos Fab' reticulados através de grupos sulfidril-reativos, conforme descrito em, por exemplo, US5273743; proteínas de ligação biossintéticas, por exemplo, um par de scFvs reticulados através de caudas C-terminais de preferência através de reticulação química com dissulfeto ou aminorreativa, conforme descrito em, por exemplo, US5534254; anticorpos bifuncionais, por exemplo, fragmentos Fab com diferentes especificidades de ligação dimerizados através de zíperes de leucina (por exemplo, c-fos e c-jun) que substituíram o domínio constante, conforme descrito em, por exemplo, US5582996; receptores mono- e oligovalentes biespecíficos e oligoespecíficos, por exemplo, regiões VH-CH1 de dois anticorpos (dois fragmentos Fab) ligadas através de um espaçador polipeptídico entre a região de CH1 de um anticorpo e a região de VH do outro anticorpo, tipicamente com cadeias leves associadas, conforme descrito em, por exemplo, US5591828; conjugados DNA-anticorpo biespecíficos, por exemplo, reticulação de anticorpos ou fragmentos Fab através de uma porção de DNA de fita dupla, conforme descrito em, por exemplo, US5635602; proteínas de fusão biespecíficas, por exemplo, um construto de expressão contendo dois scFvs com um ligante peptídico helicoidal hidrofílico entre aqueles

e uma região constante completa, conforme descrito em, por exemplo, US5637481; proteínas de ligação multivalentes e multiespecíficas, por exemplo, dímero de polipeptídeos tendo o primeiro domínio com região de ligação de região variável de cadeia pesada de Ig, e o segundo domínio com região de ligação de região variável de cadeia leve de Ig, geralmente designados diacorpos (são também abrangidas estruturas de ordem superior criando moléculas biespecíficas, triespecíficas ou tetraespecíficas, conforme descrito em, por exemplo, US5837242; construtos de minicorpo com cadeias VL e VH ligadas adicionalmente conetadas com espaçadores peptídicos a uma região de dobradiça de anticorpo e região CH3, que podem ser dimerizados para formarem moléculas biespecíficas/multivalentes, conforme descrito em, por exemplo, US5837821; domínios VH e VL ligados com um ligante peptídico curto (por exemplo, 5 ou 10 aminoácidos) ou sem qualquer ligante em qualquer uma das orientações, que podem formar dímeros para formar diacorpos biespecíficos; trímeros e tetrâmeros, conforme descrito em, por exemplo, US5844094; Cadeia de domínios VH (ou domínios VL em membros da família) ligados por ligações peptídicas a grupos reticuláveis no C terminal adicionalmente associados a domínios VL para formar uma série de FVs (ou scFvs), conforme descrito em, por exemplo, US5864019; e polipeptídeos de ligação de cadeia única com um domínio VH e um VL ligados através de um ligante peptídico são combinados em estruturas multivalentes através de reticulação não covalente ou química para formar, por exemplo, estruturas homobivalentes, heterobivalentes, trivalentes e tetravalentes, usando tanto scFV como formato tipo diacorpo, conforme descrito em, por exemplo, US5869620. Moléculas multiespecíficas e biespecíficas exemplificativas adicionais e métodos de preparação das mesmas são encontrados, por exemplo, em US5910573, US5932448, US5959083, US5989830, US6005079, US6239259, US6294353, US6333396,

US6476198, US6511663, US6670453, US6743896, US6809185, US6833441, US7129330, US7183076, US7521056, US7527787, US7534866, US7612181, US2002004587A1, US2002076406A1, US2002103345A1, US2003207346A1, US2003211078A1, US2004219643A1, US2004220388A1, US2004242847A1, US2005003403A1, US2005004352A1, US2005069552A1, US2005079170A1, US2005100543A1, US2005136049A1, US2005136051A1, US2005163782A1, US2005266425A1, US2006083747A1, US2006120960A1, US2006204493A1, US2006263367A1, US2007004909A1, US2007087381A1, US2007128150A1, US2007141049A1, US2007154901A1, US2007274985A1, US2008050370A1, US2008069820A1, US2008152645A1, US2008171855A1, US2008241884A1, US2008254512A1, US2008260738A1, US2009130106A1, US2009148905A1, US2009155275A1, US2009162359A1, US2009162360A1, US2009175851A1, US2009175867A1, US2009232811A1, US2009234105A1, US2009263392A1, US2009274649A1, EP346087A2, WO0006605A2, WO02072635A2, WO04081051A1, WO06020258A2, WO2007044887A2, WO2007095338A2, WO2007137760A2, WO2008119353A1, WO2009021754A2, WO2009068630A1, WO9103493A1, WO9323537A1, WO9409131A1, WO9412625A2, WO9509917A1, WO9637621A2, WO9964460A1. Os conteúdos dos pedidos acima referenciados são incorporados aqui por referência na sua totalidade.

[0492] Dentro de cada anticorpo ou fragmento de anticorpo (por exemplo, scFv) de uma molécula de anticorpo biespecífica, o VH pode estar a montante ou a jusante do VL. Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo (por exemplo, scFv) a montante é disposto com o seu VH (VH_1) a montante do seu VL (VL_1) e o anticorpo ou fragmento de anticorpo(por exemplo, scFv) a jusante é disposto com

o seu VL (VL_2) a montante do seu VH (VH_2), de modo que a molécula de anticorpo biespecífica global tenha a disposição VH_1-VL_1-VL_2-VH_2. Em outras modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo (por exemplo, scFv) a montante é disposto com o seu VL (VL_1) a montante do seu VH (VH_1) e o anticorpo ou fragmento de anticorpo (por exemplo, scFv) a jusante é disposto com o seu VH (VH_2) a montante do seu VL (VL_2), de modo que a molécula de anticorpo biespecífica global tenha a disposição VL_1-VH_1-VH_2-VL_2. Opcionalmente, um ligante está disposto entre os dois anticorpos ou fragmentos de anticorpos (por exemplo, scFvs), por exemplo, entre VL_1 e VL_2 se o construto estiver disposto como VH_1-VL_1-VL_2-VH_2, ou entre VH_1 e VH_2 se o construto estiver disposto como VL_1-VH_1-VH_2-VL_2. O ligante pode ser um ligante como descrito aqui, por exemplo, um ligante $(Gly_4\text{-}Ser)n$, em que n é 1, 2, 3, 4, 5 ou 6, preferencialmente 4 (SEQ ID Nº: 72). Em geral, o ligante entre os dois scFvs será suficientemente longo para evitar emparelhamento defeituoso entre os domínios dos dois scFvs. Opcionalmente, um ligante está disposto entre o VL e o VH do primeiro scFv. Opcionalmente, um ligante está disposto entre o VL e o VH do segundo scFv. Em construtos que têm vários ligantes, quaisquer dois ou mais dos ligantes podem ser os mesmos ou diferentes. Em conformidade, em algumas modalidades, um CAR biespecífico compreende VLs, VHs e opcionalmente um ou mais ligantes em uma disposição como descrita aqui.

Estabilidade e Mutações

[0493] A estabilidade de um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer como descrito aqui, por exemplo, moléculas de scFv (por exemplo, scFv solúvel) pode ser avaliada em referência às propriedades biofísicas (por exemplo, estabilidade térmica) de uma molécula de scFv de controle convencional ou um anticorpo completo. Em uma modalidade, o scFv humanizado tem uma estabilidade térmica que é maior do que cerca de 0,1, cerca de 0,25,

cerca de 0,5, cerca de 0,75, cerca de 1, cerca de 1,25, cerca de 1,5, cerca de 1,75, cerca de 2, cerca de 2,5, cerca de 3, cerca de 3,5, cerca de 4, cerca de 4,5, cerca de 5, cerca de 5,5, cerca de 6, cerca de 6,5, cerca de 7, cerca de 7,5, cerca de 8, cerca de 8,5, cerca de 9, cerca de 9,5, cerca de 10 graus, cerca de 11 graus, cerca de 12 graus, cerca de 13 graus, cerca de 14 graus ou cerca de 15 graus Celsius em relação a uma molécula de ligação de controle (por exemplo, uma molécula de scFv convencional) nos ensaios descritos.

[0494] A estabilidade térmica melhorada do domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer como descrito aqui, por exemplo, scFv, é subsequentemente conferida ao construto de CAR completo, conduzindo a propriedades terapêuticas melhoradas do construto de CAR. A estabilidade térmica do domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer como descrito aqui, por exemplo, scFv, pode ser melhorada em pelo menos cerca de 2°C ou 3°C em comparação com um anticorpo convencional. Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, tem uma estabilidade térmica melhorada em 1°C em comparação com um anticorpo convencional. Em outra modalidade, o domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, tem uma estabilidade térmica melhorada em 2°C em comparação com um anticorpo convencional. Em outra modalidade, o scFv tem uma estabilidade térmica melhorada em 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15°C em comparação com um anticorpo convencional. Podem ser feitas comparações, por exemplo, entre as moléculas scFv reveladas aqui e moléculas scFv ou fragmentos Fab de um anticorpo de onde foram derivadas as VH e VL do scFv. A estabilidade térmica pode ser medida com o uso de métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, em uma modalidade, a Tf pode ser medida. Os métodos para medir a

Tf e outros métodos para determinar a estabilidade de proteínas são descritos em mais detalhe abaixo.

[0495] Mutações em scFv (que surgem através de humanização ou mutagênese direta do scFv solúvel) podem alterar a estabilidade do scFv e melhorar a estabilidade global do scFv e do construto de CAR. A estabilidade do scFv humanizado é comparada contra o scFv murino usando medições tais como Tf, temperatura de desnaturação e temperatura de agregação.

[0496] A capacidade de ligação dos scFvs mutantes pode ser determinada usando ensaios conhecidos na técnica e descritos aqui.

[0497] Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, compreende pelo menos uma mutação que surge do processo de humanização de modo que o scFv mutado confere estabilidade melhorada ao construto de CAR. Em outra modalidade, o domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, compreende pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mutações que surgem do processo de humanização de modo que o scFv mutado confere estabilidade melhorada ao construto de CAR.

Métodos para Avaliar a Estabilidade de Proteínas

[0498] A estabilidade de um domínio de ligação a antígenos pode ser avaliada com o uso, por exemplo, dos métodos descritos abaixo. Tais métodos permitem a determinação de múltiplas transições de desdobramento térmico em que o domínio menos estável desdobra primeiro ou limita o limiar de estabilidade geral de uma unidade de múltiplos domínios que desdobra cooperativamente (por exemplo, uma proteína de múltiplos domínios que exibe uma única transição de desdobramento). O domínio menos estável pode ser identificado de vários modos adicionais. A mutagênese pode ser realizada para sondar qual domínio limita a estabilidade geral. Adicionalmente, a resistência a

proteases de uma proteína com múltiplos domínios pode ser avaliada sob condições nas quais se sabe que o domínio menos estável é intrinsecamente desdobrado via DSC ou outros métodos espectroscópicos (Fontana, *et al.*, (1997) *Fold. Des.*, 2: R17-26; Dimasi *et al.* (2009) *J. Mol. Biol.* 393: 672-692). Uma vez que o domínio menos estável é identificado, a sequência que codifica esse domínio (ou uma porção do mesmo) pode ser empregue como uma sequência de teste nos métodos.

a) Estabilidade térmica

[0499] A estabilidade térmica das composições pode ser analisada com o uso de várias técnicas biofísicas ou bioquímicas não limitantes conhecidas na técnica. Em certas modalidades, a estabilidade térmica é avaliada por espectroscopia analítica.

[0500] Um método de espectroscopia analítica exemplificativo é Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC). DSC emprega um calorímetro que é sensível às absorbâncias de calor que acompanham o desdobramento da maioria das proteínas ou domínios de proteínas (consultar, por exemplo, Sanchez-Ruiz, *et al., Biochemistry*, 27: 1648-52, 1988). Para determinar a estabilidade térmica de uma proteína, uma amostra da proteína é inserida no calorímetro e a temperatura é elevada até o Fab ou scFv desdobrar. A temperatura à qual a proteína desdobra é indicativa da estabilidade da proteína geral.

[0501] Outro método de espectroscopia analítica exemplificativo é espectroscopia de Dicroísmo Circular (CD). A espectrometria CD mede a atividade óptica de uma composição como uma função de temperatura crescente. A espectroscopia de dicroísmo circular (CD) mede as diferenças na absorção de luz polarizada esquerda versus luz polarizada direita que surgem devido à assimetria estrutural. Uma estrutura desordenada ou desdobrada resulta em um espectro CD muito diferente do de uma estrutura ordenada ou dobrada. O espectro CD

reflete a sensibilidade das proteínas aos efeitos desnaturantes da temperatura crescente e é, portanto, indicativo da estabilidade térmica de uma proteína (consultar van Mierlo e Steemsma, *J. Biotechnol.*, 79(3):281-98, 2000).

[0502] Outro método de espectroscopia analítica exemplificativo para medir a estabilidade térmica é Espectroscopia de Emissão de Fluorescência (consultar van Mierlo e Steemsma, *supra*). Ainda outro método de espectroscopia analítica exemplificativo para medir a estabilidade térmica é espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (consultar, por exemplo, van Mierlo e Steemsma, *supra*).

[0503] A estabilidade térmica de uma composição pode ser medida bioquimicamente. Um método bioquímico exemplificativo para avaliar a estabilidade térmica é um ensaio de desafio térmico. Em um "ensaio de desafio térmico", uma composição é submetida a uma faixa de temperaturas elevadas por um período de tempo definido. Por exemplo, em uma modalidade, as moléculas de scFv de teste ou moléculas que compreendem moléculas de scFv são submetidas a uma faixa de temperaturas crescentes, por exemplo, durante 1-1,5 horas. A atividade da proteína é, então, avaliada por um ensaio bioquímico relevante. Por exemplo, se a proteína for uma proteína de ligação (por exemplo, um scFv ou polipeptídeo contendo scFv), a atividade de ligação da proteína de ligação pode ser determinada por um ELISA funcional ou quantitativo.

[0504] Tal ensaio pode ser feito em um formato de alto rendimento e aqueles revelados nos Exemplos com o uso de *E. coli* e triagem de alto rendimento. Uma biblioteca de domínios de ligação a antígenos, por exemplo, que inclui um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, variantes de scFv, pode ser criada usando métodos conhecidos na técnica. A expressão de um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, para um

antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, pode ser induzida e o domínio de ligação a antígenos, por exemplo, para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, pode ser sujeito a provocação térmica. As amostras de teste provocadas podem ser avaliadas quanto à ligação e aqueles domínios de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFvs, que são estáveis podem ser escalados positivamente e adicionalmente caracterizados.

[0505] A estabilidade térmica é avaliada medindo a temperatura de fusão (Tf) de uma composição com o uso de qualquer uma das técnicas acima (por exemplo, técnicas de espectroscopia analítica). A temperatura de fusão é a temperatura do ponto médio de uma curva de transição térmica em que 50% das moléculas de uma composição estão em um estado dobrado (consultar, por exemplo, Dimasi *et al.* (2009) *J. Mol Biol.* 393: 672-692). Em uma modalidade, os valores de Tf para um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, são cerca de 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C. Em uma modalidade, os valores de Tf para uma IgG são cerca de 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C. Em uma modalidade, os valores de Tf para um anticorpo multivalente são cerca de 40°C, 41°C,

42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, 71°C, 72°C, 73°C, 74°C, 75°C, 76°C, 77°C, 78°C, 79°C, 80°C, 81°C, 82°C, 83°C, 84°C, 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C.

[0506] A estabilidade térmica é também avaliada medindo o calor específico ou a capacidade térmica (Cp) de uma composição com o uso de uma técnica calorimétrica analítica (por exemplo, DSC). O calor específico de uma composição é a energia (por exemplo, em kcal/mol) que é exigida para elevar por 1°C a temperatura de 1 mol de água. Uma Cp grande é um marco de uma composição de proteína desnaturada ou inativa. A alteração da capacidade térmica (ΔCp) de uma composição é medida determinando o calor específico de uma composição antes e após a sua transição térmica. A estabilidade térmica pode também ser avaliada medindo ou determinando outros parâmetros da estabilidade termodinâmica, incluindo energia livre de Gibbs do desdobramento (ΔG), entalpia do desdobramento (ΔH) ou entropia do desdobramento (ΔS). Um ou mais dos ensaios bioquímicos acima (por exemplo, um ensaio de desafio térmico) são usados para determinar a temperatura (isto é, o valor de T_C) à qual 50% da composição retém sua atividade (por exemplo, atividade de ligação).

[0507] Adicionalmente, mutações no domínio de ligação a antígenos de um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, podem ser efetuadas para alterar a estabilidade térmica do domínio de ligação a antígenos de um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, em comparação com o domínio de ligação a antígenos não mutado de um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv. Quando o domínio de ligação a antígenos humanizado de um antígeno associado a câncer descrito

aqui, por exemplo, scFv, é incorporado em um construto de CAR, o domínio de ligação a antígenos do antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv humanizado, confere estabilidade térmica aos CARs globais da presente invenção. Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, compreende uma única mutação que confere estabilidade térmica ao domínio de ligação a antígenos para o antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv. Em outra modalidade, o domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, compreende múltiplas mutações que conferem estabilidade térmica ao domínio de ligação a antígenos para o antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv. Em uma modalidade, as múltiplas mutações no domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, têm um efeito aditivo na estabilidade térmica do domínio de ligação a antígenos para o antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv.

b) % de Agregação

[0508] A estabilidade de uma composição pode ser determinada medindo sua propensão a agregar. A agregação pode ser medida por várias técnicas bioquímicas ou biofísicas não limitantes. Por exemplo, a agregação de uma composição pode ser avaliada com o uso de cromatografia, por exemplo, Cromatografia de Exclusão de Tamanho (SEC). A SEC separa as moléculas com base no tamanho. Uma coluna é preenchida com microesferas semissólidas de um gel polimérico que admitirá íons e pequenas moléculas em seu interior, mas não as grandes. Quando uma composição de proteínas é aplicada no topo da coluna, as proteínas dobradas compactas (isto é, proteínas não agregadas) são distribuídas através de um volume maior de solvente do que está disponível aos agregados de proteínas grandes.

Consequentemente, os agregados grandes se movem mais rapidamente através da coluna e, desse modo, a mistura pode ser separada ou fracionada em seus componentes. Cada fração pode ser separadamente quantificada (por exemplo, por dispersão de luz) à medida que elui do gel. Consequentemente, a % de agregação de uma composição pode ser determinada comparando a concentração de uma fração com a concentração total de proteína aplicada ao gel. As composições estáveis eluem da coluna essencialmente como uma única fração e aparecem essencialmente como um único pico no perfil de eluição ou cromatograma.

c) Afinidade de Ligação

[0509] A estabilidade de uma composição pode ser avaliada determinando sua afinidade de ligação para ao alvo. Uma ampla variedade de métodos para determinar a afinidade de ligação é conhecida na técnica. Um método exemplificativo para determinar a afinidade de ligação emprega a ressonância de plásmon de superfície. Ressonância de plásmon de superfície é um fenômeno óptico que permite a análise de interações bioespecíficas em tempo real por detecção de alterações em concentrações de proteína dentro uma matriz de biossensor, por exemplo, usando o sistema BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suécia e Piscataway, N.J). Quanto a descrições adicionais ver Jonsson, U., *et al.* (1993) *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26; Jonsson, U., i (1991) *Biotechniques* 11:620-627; Johnsson, B., *et al.* (1995) *J. Mol. Recognit.* 8:125-131; e Johnnson, B., *et al.* (1991) *Anal. Biochem.* 198:268-277.

[0510] Em um aspecto, o domínio de ligação a antígenos do CAR compreende uma sequência de aminoácidos que é homóloga a uma sequência de aminoácidos do domínio de ligação a antígenos descrita aqui, e o domínio de ligação a antígenos retém as propriedades funcionais desejadas do domínio de ligação a antígenos descrito aqui.

[0511] Em um aspecto específico, a composição de CAR da invenção compreende um fragmento de anticorpo. Em um aspecto adicional, o fragmento de anticorpo compreende um scFv.

[0512] Em vários aspectos, o domínio de ligação a antígenos do CAR é manipulado por modificação de um ou mais aminoácidos em uma ou nas duas regiões variáveis (por exemplo, VH e/ou VL), por exemplo, em uma ou mais regiões CDR e/ou em uma ou mais regiões de arcabouço. Em um aspecto específico, a composição de CAR da invenção compreende um fragmento de anticorpo. Em um aspecto adicional, o fragmento de anticorpo compreende um scFv.

[0513] Será entendido pelo perito na técnica que o anticorpo ou fragmento de anticorpo da invenção pode ser adicionalmente modificado, de modo que varia no que se refere à sequência de aminoácidos (por exemplo, relativamente ao tipo selvagem), mas não no que se refere à atividade desejada. Por exemplo, substituições de nucleotídeos adicionais conducentes a substituições de aminoácidos em resíduos de aminoácidos "não essenciais" podem ser feitas na proteína. Por exemplo, um resíduo de aminoácido não essencial em uma molécula pode ser substituído por outro resíduo de aminoácido da mesma família de cadeias laterais. Em outra modalidade, uma fiada de aminoácidos pode ser substituída por uma fiada estruturalmente similar que difere quanto à ordem e/ou composição de membros da família de cadeias laterais, por exemplo, pode ser efetuada uma substituição conservativa, em que um resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido tendo uma cadeia lateral similar.

[0514] Famílias de resíduos de aminoácidos possuindo cadeias laterais similares foram definidas na técnica, incluindo cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais acídicas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares sem carga (por exemplo, glicina, asparagina, glutamina,

serina, treonina, tirosina, cisteína), cadeias laterais não polares (por exemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadeias laterais beta-ramificadas (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina).

[0515] Percentagem de identidade, no contexto de duas ou mais sequências de ácidos nucleicos ou polipeptídeos, se relaciona com duas ou mais sequências que são iguais. Duas sequências são "substancialmente idênticas" se duas sequências tiverem uma percentagem especificada de resíduos de aminoácidos ou nucleotídeos que são iguais (por exemplo, 60% de identidade, opcionalmente 70%, 71%. 72%. 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%,81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade ao longo de uma região especificada, ou, quando não especificado, ao longo de toda a sequência), quando comparadas e alinhadas para correspondência máxima ao longo de uma janela de comparação, ou região designada, medida usando um dos seguintes algoritmos de comparação de sequências ou por alinhamento manual e inspeção visual. Opcionalmente, a identidade existe ao longo de uma região que tem pelo menos cerca de 50 nucleotídeos (ou 10 aminoácidos) de comprimento, ou mais preferencialmente ao longo de uma região que tem 100 até 500 ou 1000 ou mais nucleotídeos (ou 20, 50, 200 ou mais aminoácidos) de comprimento.

[0516] Para comparação de sequências, tipicamente uma sequência atua como uma sequência de referência com a qual sequências de teste são comparadas. Ao usar um algoritmo de comparação de sequências, as sequências de teste e de referência são inseridas em um computador, são designadas coordenadas de subsequências, se necessário, e são designados parâmetros do

programa de algoritmo de sequências. Parâmetros predefinidos do programa podem ser usados, ou parâmetros alternativos podem ser designados. O algoritmo de comparação de sequências então calcula a percentagem de identidades de sequências para as sequências de teste relativamente à sequência de referência, com base nos parâmetros do programa. Métodos de alinhamento de sequências para comparação são bem conhecidos na técnica. O alinhamento ótimo de sequências para comparação pode ser conduzido, por exemplo, pelo algoritmo de homologia local de Smith e Waterman, (1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482c, pelo algoritmo de alinhamento para homologia de Needleman e Wunsch, (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, pelo método de busca de similaridade de Pearson e Lipman, (1988) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, por implementações computorizadas destes algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, e TFASTA no Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), ou por alinhamento manual e inspeção visual (ver, por exemplo, Brent *et al.*, (2003) "Current Protocols in Molecular Biology").

[0517] Dois exemplos de algoritmos que são adequados para determinar a percentagem de identidade de sequência e similaridade de sequência são os algoritmos BLAST e BLAST 2.0, que são descritos em Altschul *et al.*, (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402; e Altschul *et al.*, (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410, respectivamente. *Software* para realizar análises de BLAST é publicamente disponibilizado pelo National Center for Biotechnology Information.

[0518] A percentagem de identidade entre duas sequências de aminoácidos pode ser determinada usando o algoritmo de E. Meyers e W. Miller (1988) *Comput. Appl. Biosci.* 4:11-17) que foi incorporado no programa ALIGN (versão 2.0), usando uma tabela de resíduos de pesos PAM120, uma penalidade de comprimento de intervalos de 12 e uma penalidade de intervalos de 4. Adicionalmente, a percentagem de

identidade entre duas sequências de aminoácidos pode ser determinada usando o algoritmo de Needleman e Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-453) que foi incorporado no programa GAP no pacote de *software* GCG (disponível em www.gcg.com), usando uma matriz Blossom 62 ou uma matriz PAM250, e um peso de intervalo de 16, 14, 12, 10, 8, 6 ou 4 e um peso de comprimento de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6.

[0519] Em um aspecto, a presente invenção contempla modificações da sequência de aminoácidos do anticorpo ou fragmento (por exemplo, scFv) de partida que geram moléculas funcionalmente equivalentes. Por exemplo, a VH ou VL de um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv, compreendido no CAR pode ser modificada de modo a reter pelo menos cerca de 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%,81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade da região de arcabouço de VH ou VL de partida do domínio de ligação a antígenos para o antígeno associado a câncer descrito aqui, por exemplo, scFv. A presente invenção contempla modificações de todo o construto CAR, por exemplo, modificações em uma ou mais sequências de aminoácidos dos vários domínios do construto CAR de forma a gerar moléculas funcionalmente equivalentes. O construto de CAR pode ser modificado de modo a reter pelo menos cerca de 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidade do construto de CAR de partida.

Domínio de Transmembrana

[0520] Em relação ao domínio de transmembrana, em várias modalidades, um CAR pode ser concebido para compreender um domínio de transmembrana que está ligado ao domínio extracelular do CAR. Um domínio de transmembrana pode incluir um ou mais

aminoácidos adicionais adjacentes à região transmembrana, por exemplo, um ou mais aminoácidos associados à região extracelular da proteína de onde a transmembrana foi derivada (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 até 15 aminoácidos da região extracelular) e/ou um ou mais aminoácidos adicionais associados à região intracelular da proteína de onde a proteína transmembrana é derivada (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 até 15 aminoácidos da região intracelular). Em um aspecto, o domínio de transmembrana está associado a um dos outros domínios do CAR, por exemplo, em uma modalidade, o domínio de transmembrana pode ser da mesma proteína de onde o domínio de sinalização, domínio coestimulador ou o domínio dobradiça são derivados. Em outro aspecto, o domínio de transmembrana não é derivado da mesma proteína da qual qualquer outro domínio do CAR é derivado. Em alguns casos, o domínio de transmembrana pode ser selecionado ou modificado por substituição de aminoácidos para evitar a ligação de tais domínios aos domínios transmembrana das mesmas ou diferentes proteínas de membrana de superfície, por exemplo, para minimizar interações com outros membros do complexo receptor. Em um aspecto, o domínio de transmembrana é capaz de homodimerização com outro CAR na superfície celular de uma célula expressando CAR. Em um aspecto diferente, a sequência de aminoácidos do domínio de transmembrana pode ser modificada ou substituída de modo a minimizar interações com os domínios de ligação do parceiro de ligação nativo presente na mesma célula expressando o CAR.

[0521] O domínio de transmembrana pode ser derivado de uma fonte natural ou de uma recombinante. Quando a fonte é natural, o domínio pode ser derivado de qualquer proteína ligada a membrana ou transmembrana. Em um aspecto, o domínio de transmembrana é capaz de sinalizar o(s) domínio(s) intracelular(es) sempre que o CAR se tenha

ligado a um alvo. Um domínio de transmembrana de uso particular nesta invenção pode incluir pelo menos a(s) região(ões) transmembrana, por exemplo, da cadeia alfa, beta ou zeta do receptor de células T, CD28, CD27, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154. Em algumas modalidades, um domínio de transmembrana pode incluir pelo menos a(s) região(ões) transmembrana, por exemplo, de KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R beta, IL2R gama, IL7R α, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11l, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D, NKG2C.

[0522] Em alguns casos, o domínio de transmembrana pode ser ligado à região extracelular do CAR, por exemplo, o domínio de ligação a antígenos do CAR, via uma região de dobradiça, por exemplo, uma região de dobradiça de uma proteína humana. Por exemplo, em uma modalidade, a dobradiça pode ser uma dobradiça de Ig (imunoglobulina) humana (por exemplo, uma dobradiça de IgG4, uma dobradiça de IgD), um ligante de GS (por exemplo, um ligante de GS aqui descrito), uma dobradiça de KIR2DS2 ou uma dobradiça de CD8a. Em uma modalidade, a dobradiça ou espaçador compreende (por exemplo, consiste em) a sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº:4. Em um aspecto, o domínio de transmembrana compreende (por exemplo, consiste em) um domínio de transmembrana de SEQ ID Nº: 12.

[0523] Em um aspecto, a dobradiça ou espaçador compreende uma

dobradiça de IgG4. Por exemplo, em uma modalidade, a dobradiça ou espaçador compreende uma região de dobradiça da sequência de aminoácidos
ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM
(SEQ ID Nº:6). Em algumas modalidades, a dobradiça ou espaçador compreende uma dobradiça codificada por uma sequência de nucleotídeos de
GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCG
AGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCC
AAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGT
GGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAAC
TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGC
CCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACA
AGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAA
ACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGT
ACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGC
CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG
ACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTA
CAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAAC
GTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA
CACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG (SEQ ID Nº:7).

[0524] Em um aspecto, a dobradiça ou espaçador compreende uma dobradiça de IgD. Por exemplo, em uma modalidade, a dobradiça ou espaçador compreende uma região de dobradiça da sequência de aminoácidos

RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKK
EKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCF
VVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLP
RSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSD
PPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPG
STTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYV
TDH (SEQ ID Nº:8). Em algumas modalidades, a dobradiça ou espaçador compreende uma dobradiça codificada por uma sequência de nucleotídeos de
AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACT
GCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGC
ACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGA
AAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAG
ACCCCTGAATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTC
TTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACC
TTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTTG
ACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGA
AGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACT
CAAGACTCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCT
GTCACATGTACTCTAAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTG
ATGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAG
CCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCCAGAGGCCGCCAGCT
GGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCCAACATCTTGC
TCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTC
GCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTG
GGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCCCCAGC
CAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCC
TGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACC
ATT (SEQ ID Nº:9).

[0525] Em um aspecto, o domínio de transmembrana pode ser

recombinante, em cujo caso compreenderá predominantemente resíduos hidrofóbicos, tais como leucina e valina. Em um aspecto, um tripleto de fenilalanina, triptofano e valina pode ser encontrado em cada extremidade de um domínio de transmembrana recombinante.

[0526] Opcionalmente, um ligante oligo- ou polipeptídico curto, com entre 2 e 10 aminoácidos de comprimento, pode formar a ligação entre o domínio de transmembrana e a região citoplasmática do CAR. Um dupleto glicina-serina proporciona um ligante particularmente adequado. Por exemplo, em um aspecto, o ligante compreende a sequência de aminoácidos de GGGGSGGGGS (SEQ ID Nº: 10). Em algumas modalidades, o ligante é codificado por uma sequência de nucleotídeos de GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC (SEQ ID Nº: 11).

[0527] Em um aspecto, a dobradiça ou espaçador compreende uma dobradiça de KIR2DS2.

Domínio Citoplasmático

[0528] O domínio ou região citoplasmática do CAR inclui um domínio de sinalização intracelular. Um domínio de sinalização intracelular é geralmente responsável pela ativação de pelo menos uma das funções efetoras normais da célula imune onde o CAR foi introduzido. O termo "função efetora" se relaciona com uma função especializada de uma célula. A função efetora de uma célula T, por exemplo, pode ser atividade citolítica ou atividade auxiliadora incluindo a secreção de citocinas. Assim, o termo "domínio de sinalização intracelular" se relaciona com a porção de uma proteína que procede à transdução do sinal da função efetora e dirige a célula para desempenhar uma função especializada. Não obstante habitualmente poder ser empregue o domínio de sinalização intracelular completo, em muitos casos não é necessário usar toda a cadeia. Tanto quanto uma porção truncada do domínio de sinalização intracelular é usada, tal porção truncada pode ser usada em vez da cadeia intata desde que

proceda à transdução do sinal da função efetora. Assim, o termo domínio de sinalização intracelular inclui qualquer porção truncada do domínio de sinalização intracelular suficiente para proceder à transdução do sinal da função efetora.

[0529] Exemplos de domínios de sinalização intracelulares para uso no CAR da invenção incluem as sequências citoplasmáticas do receptor de células T (TCR) e correceptores que atuam concertadamente para iniciar a transdução do sinal após engrenagem do receptor de antígenos, bem como qualquer derivado ou variante destas sequências e qualquer sequência recombinante que tenha a mesma capacidade funcional.

[0530] É conhecido que sinais gerados através do TCR isoladamente são insuficientes para ativação completa da célula T e que também é requerido um sinal secundário e/ou coestimulador. Assim, pode ser afirmado que a ativação de células T é mediada por duas classes distintas de sequências de sinalização citoplasmática: as que iniciam a ativação primária dependente de antígenos através do TCR (domínios de sinalização intracelular primários) e as que atuam de um modo independente de antígenos para proporcionar um sinal secundário ou coestimulador (domínio citoplasmático secundário, por exemplo, um domínio coestimulador).

[0531] Um domínio de sinalização primário regula a ativação primária do complexo de TCR de um modo estimulador ou de um modo inibidor. Domínios de sinalização intracelulares primários que atuam de um modo estimulador podem conter motivos de sinalização que são conhecidos como motivos de ativação baseados em tirosina do imunorreceptor ou ITAMs.

[0532] Exemplos de domínios de sinalização intracelular primários contendo ITAM que são de uso particular na invenção incluem os de CD3 zeta, FcR gama comum (FCER1G), Fc gama RIIa, FcR beta (Fc

Épsilon R1b), CD3 gama, CD3 delta, CD3 épsilon, CD79a, CD79b, DAP10 e DAP12. Em uma modalidade, um CAR da invenção compreende um domínio de sinalização intracelular, por exemplo, um domínio de sinalização primário de CD3 zeta.

[0533] Em uma modalidade, um domínio de sinalização primário compreende um domínio de ITAM modificado, por exemplo, um domínio de ITAM mutado que tem atividade alterada (por exemplo, aumentada ou decrescida) em comparação com o domínio de ITAM nativo. Em uma modalidade, um domínio de sinalização primário compreende um domínio de sinalização intracelular primário contendo ITAM modificado, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular primário contendo ITAM otimizado e/ou truncado. Em uma modalidade, um domínio de sinalização primário compreende um, dois, três, quatro ou mais motivos ITAM.

[0534] O domínio de sinalização intracelular do CAR pode compreender o domínio de sinalização de CD3-zeta por si só ou pode ser combinado com qualquer(quaisquer) outro(s) domínio(s) de sinalização intracelular(es) desejado(s) útil(úteis) no contexto de um CAR da invenção. Por exemplo, o domínio de sinalização intracelular do CAR pode compreender uma porção de cadeia CD3 zeta e um domínio de sinalização coestimulador. O domínio de sinalização coestimulador se refere a uma porção do CAR compreendendo o domínio intracelular de uma molécula coestimuladora. Uma molécula coestimuladora é uma molécula da superfície celular que não um receptor de antígenos ou seus ligantes que é necessária para uma resposta eficiente de linfócitos a um antígeno. Exemplos de tais moléculas incluem CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno associado à função de linfócitos-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, e um ligante que se liga especificamente a CD83 e similares. Por exemplo, foi demonstrado que coestimulação com CD27 intensifica a expansão,

função efetora e sobrevivência de células CART humanas *in vitro* e aumenta a persistência e atividade antitumoral de células T humanas *in vivo* (Song *et al. Blood.* 2012; 119(3):696-706). Outros exemplos de tais moléculas coestimuladoras incluem CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL2R beta, IL2R gama, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11l, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), NKG2D, CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, e CD19a.

[0535] As sequências de sinalização intracelular dentro da porção citoplasmática do CAR da invenção podem ser ligadas entre si de um modo aleatório ou em uma ordem especificada. Opcionalmente, um ligante oligo- ou polipeptídico curto, por exemplo, com entre 2 e 10 aminoácidos (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 aminoácidos) de comprimento, pode formar a ligação entre sequências de sinalização intracelular. Em uma modalidade, um dupleto glicina-serina pode ser usado como ligante adequado. Em uma modalidade, um único aminoácido, por exemplo, uma alanina, uma glicina, pode ser usado como ligante adequado.

[0536] Em um aspecto, o domínio de sinalização intracelular é planejado de modo a compreender dois ou mais, por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou mais, domínios de sinalização coestimuladores. Em uma modalidade, os dois ou mais, por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou mais, domínios de sinalização coestimuladores são separados por uma molécula ligadora, por exemplo, uma molécula ligadora descrita aqui. Em uma

modalidade, o domínio de sinalização intracelular compreende dois domínios de sinalização coestimuladores. Em algumas modalidades, a molécula ligadora é um resíduo glicina. Em algumas modalidades, o ligante é um resíduo alanina.

[0537] Em um aspecto, o domínio de sinalização intracelular é planejado de modo a compreender o domínio de sinalização de CD3-zeta e o domínio de sinalização de CD28. Em um aspecto, o domínio de sinalização intracelular é planejado de modo a compreender o domínio de sinalização de CD3-zeta e o domínio de sinalização de 4-1BB. Em um aspecto, o domínio de sinalização de 4-1BB é um domínio de sinalização de SEQ ID Nº: 14. Em um aspecto, o domínio de sinalização de CD3-zeta é um domínio de sinalização de SEQ ID Nº: 18.

[0538] Em um aspecto, o domínio de sinalização intracelular é concebido para compreender o domínio de sinalização de CD3 zeta e o domínio de sinalização de CD27. Em um aspecto, o domínio de sinalização de CD27 compreende uma sequência de aminoácidos de QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (SEQ ID Nº: 16). Em um aspecto, o domínio de sinalização de CD27 é codificado por uma sequência de ácido nucleico de AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACAT GACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCT ATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC (SEQ ID Nº: 17).

[0539] Em um aspecto, a célula expressando CAR descrita aqui pode compreender adicionalmente um segundo CAR, por exemplo, um segundo CAR que inclui um domínio de ligação a antígenos diferente, por exemplo, para o mesmo alvo ou um alvo diferente (por exemplo, um alvo diferente de um antígeno associado a câncer descrito aqui ou um antígeno associado a câncer diferente descrito aqui). Em uma modalidade, o segundo CAR inclui um domínio de ligação a antígenos

para um alvo expresso no mesmo tipo de célula cancerígena da do antígeno associado a câncer. Em uma modalidade, a célula expressando CAR compreende um primeiro CAR que visa um primeiro antígeno e inclui um domínio de sinalização intracelular tendo um domínio de sinalização coestimulador, mas não um domínio de sinalização primário, e um segundo CAR que visa um segundo antígeno diferente e inclui um domínio de sinalização intracelular tendo um domínio de sinalização primário, mas não um domínio de sinalização coestimulador. Sem pretender ficar restringido pela teoria, a colocação de um domínio de sinalização coestimulador, por exemplo, 4-1BB, CD28, CD27 ou OX-40, no primeiro CAR, e do domínio de sinalização primário, por exemplo, CD3 zeta, no segundo CAR pode limitar a atividade de CAR a células onde os dois alvos são expressos. Em uma modalidade, a célula expressando CAR compreende um primeiro CAR para um antígeno associado a câncer que inclui um domínio de ligação a antígenos que se liga a um antígeno-alvo descrito aqui, um domínio de transmembrana e um domínio coestimulador, e um segundo CAR que visa um antígeno-alvo diferente (por exemplo, um antígeno expresso nesse mesmo tipo de células cancerígenas do primeiro antígeno-alvo) e inclui um domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização primário. Em outra modalidade, a célula expressando CAR compreende um primeiro CAR que inclui um domínio de ligação a antígenos que se liga a um antígeno-alvo descrito aqui, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização primário, e um segundo CAR que visa um antígeno diferente do primeiro antígeno-alvo (por exemplo, um antígeno expresso no mesmo tipo de células cancerígenas das do primeiro antígeno-alvo) e inclui um domínio de ligação a antígenos para o antígeno, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização coestimulador.

[0540] Em uma modalidade, a célula expressando CAR

compreende um CAR X descrito aqui e um CAR inibidor. Em uma modalidade, o CAR inibidor compreende um domínio de ligação a antígenos que liga um antígeno encontrado em células normais, mas não células cancerígenas, por exemplo, células normais que também expressam CLL. Em uma modalidade, o CAR inibidor compreende o domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e um domínio intracelular de uma molécula inibidora. Por exemplo, o domínio intracelular do CAR inibidor pode ser um domínio intracelular de PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 ou TGF beta.

[0541] Em uma modalidade, quando a célula expressando CAR compreende dois ou mais CARs diferentes, os domínios de ligação a antígenos dos diferentes CARs podem ser de modo a que os domínios de ligação a antígenos não interajam entre si. Por exemplo, uma célula expressando um primeiro e um segundo CAR pode ter um domínio de ligação a antígenos do primeiro CAR, por exemplo, como um fragmento, por exemplo, um scFv, que não forma uma associação com o domínio de ligação a antígenos do segundo CAR, por exemplo, o domínio de ligação a antígenos do segundo CAR é um VHH.

[0542] Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos compreende moléculas de ligação a antígenos de domínio único (SDAB), incluindo moléculas cujas regiões determinantes de complementaridade fazem parte de um polipeptídeo de domínio único. Exemplos incluem, mas não se limitam a, domínios variáveis de cadeia pesada, moléculas de ligação naturalmente desprovidas de cadeias leves, domínios únicos derivados de anticorpos convencionais de 4 cadeias, domínios manipulados e suportes de domínio único que não os derivados de anticorpos. As moléculas SDAB podem ser quaisquer da técnica, ou quaisquer futuras moléculas de domínio único. As moléculas

SDAB podem ser derivadas de qualquer espécie, incluindo, mas não se limitando a, camundongo, humano, camelo, lhama, lampreia, peixe, tubarão, cabra, coelho e bovino. Este termo também inclui moléculas de anticorpo de domínio único de ocorrência natural de espécies que não Camelídeos e tubarões.

[0543] Em um aspecto, uma molécula SDAB pode ser derivada de uma região variável da imunoglobulina encontrada em peixes tais como, por exemplo, a derivada do isótipo de imunoglobulina conhecido como Novel Antigen Receptor (NAR - Novo Receptor de Antígenos) encontrado no soro de tubarão. Métodos de produção de moléculas de domínio único derivados de uma região variável de NAR ("IgNARs") são descritos em WO 03/014161 e Streltsov (2005) *Protein Sci.* 14:2901-2909.

[0544] De acordo com outro aspecto, uma molécula SDAB é uma molécula de ligação a antígenos de domínio único de ocorrência natural conhecida como cadeia pesada desprovida de cadeias leves. Tais moléculas de domínio único são reveladas em WO 9404678 e Hamers-Casterman, C. *et al.* (1993) *Nature* 363:446-448, por exemplo. Por questões de clareza, este domínio variável derivado de uma molécula de cadeia pesada naturalmente desprovida de cadeia leve é conhecido aqui como um VHH ou nanocorpo para distingui-lo de VH convencional de imunoglobulinas de quatro cadeias. Tal molécula VHH pode ser derivada de espécies de Camelídeos, por exemplo, em camelo, lhama, dromedário, alpaca e guanaco. Outras espécies para além de Camelídeos podem produzir moléculas de cadeia pesada naturalmente desprovidas de cadeia leve; tais VHHs encontram-se dentro do escopo da invenção.

[0545] As moléculas SDAB podem ser recombinantes, enxertadas com CDR, humanizadas, camelizadas, desimunizadas e/ou geradas *in vitro* (por exemplo, selecionadas por exibição em fagos).

[0546] Foi também descoberto que, em células tendo vários

receptores quiméricos incorporados em membrana compreendendo um domínio de ligação a antígenos, interações entre o domínio de ligação a antígenos dos receptores podem ser indesejáveis, por exemplo, porque isso inibe a capacidade de um ou mais domínios de ligação a antígenos se ligarem ao seu antígeno cognato. Em conformidade, são aqui reveladas células tendo um primeiro e um segundo receptor quimérico incorporado em membrana de ocorrência não natural compreendendo domínios de ligação a antígenos que minimizam tais interações. Também são revelados aqui ácidos nucleicos codificando um primeiro e um segundo receptor quimérico embutido em membrana não ocorrendo naturalmente compreendendo domínios de ligação a antígenos que minimizam tais interações, bem como métodos de preparação e uso de tais células e ácidos nucleicos. Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos de um dos referidos primeiro e segundo receptores quiméricos embutidos em membrana não ocorrendo naturalmente compreende um scFv, e o outro compreende um domínio VH simples, por exemplo, um domínio VH simples de camelídeo, tubarão ou lampreia, ou um domínio VH simples derivado de uma sequência humana ou de camundongo.

[0547] Em algumas modalidades, a invenção reivindicada compreende um primeiro e um segundo CAR, em que o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR não compreende um domínio leve variável e um domínio pesado variável. Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR é um scFv, e o outro não é um scFv. Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR compreende um domínio VH simples, por exemplo, um domínio VH simples de camelídeo, tubarão ou lampreia, ou um domínio VH simples derivado de uma sequência humana ou de camundongo. Em algumas

modalidades, o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR compreende um nanocorpo. Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR compreende um domínio VHH de camelídeo.

[0548] Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR compreende um scFv, e o outro compreende um domínio VH simples, por exemplo, um domínio VH simples de camelídeo, tubarão ou lampreia, ou um domínio VH simples derivado de uma sequência humana ou de camundongo. Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR compreende um scFv, e o outro compreende um nanocorpo. Em algumas modalidades, o domínio de ligação a antígenos de um dentre o dito primeiro CAR e o dito segundo CAR compreende um scFv, e o outro compreende um domínio VHH de camelídeo.

[0549] Em algumas modalidades, quando presente na superfície de uma célula, a ligação do domínio de ligação a antígenos do dito primeiro CAR ao seu antígeno cognato não é substancialmente reduzida pela presença do dito segundo CAR. Em algumas modalidades, a ligação do domínio de ligação a antígenos do dito primeiro CAR ao seu antígeno cognato na presença do dito segundo CAR é 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% da ligação do domínio de ligação a antígenos do dito primeiro CAR ao seu antígeno cognato na ausência do dito segundo CAR.

[0550] Em algumas modalidades, quando presentes na superfície de uma célula, os domínios de ligação a antígenos do dito primeiro CAR e do dito segundo CAR se associam menos entre si do que se ambos fossem domínios de ligação a antígenos scFv. Em algumas modalidades, os domínios de ligação a antígenos do referido primeiro

CAR e referido segundo CAR se associam entre si 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% menos do que se ambos fossem domínios de ligação a antígenos scFv.

[0551] Em outro aspecto, a célula expressando CAR descrita aqui pode expressar adicionalmente outro agente, por exemplo, um agente que intensifica a atividade de uma célula expressando CAR. Por exemplo, em uma modalidade, o agente pode ser um agente que inibe uma molécula inibidora. Moléculas inibidoras, por exemplo, PD1, podem, em algumas modalidades, diminuir a capacidade de uma célula expressando CAR para montar uma resposta imune efetora. Os exemplos de moléculas inibidoras incluem PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 e TGF beta. Em uma modalidade, o agente que inibe uma molécula inibidora, por exemplo, é uma molécula descrita aqui, por exemplo, um agente que compreende um primeiro polipeptídeo, por exemplo, uma molécula inibidora, associado a um segundo polipeptídeo que fornece um sinal positivo à célula, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular descrito aqui. Em uma modalidade, o agente compreende um primeiro polipeptídeo, por exemplo, de uma molécula inibidora tal como PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 ou TGF beta, ou um fragmento de quaisquer destes (por exemplo, pelo menos uma porção de um domínio extracelular de qualquer um destes), e um segundo polipeptídeo que é um domínio de sinalização intracelular descrito aqui (por exemplo, compreendendo um domínio coestimulador (por exemplo, 41BB, CD27 ou CD28, por exemplo, como descrito aqui) e/ou um domínio de sinalização primário (por exemplo, um domínio de sinalização de CD3 zeta descrito aqui)). Em uma modalidade, o agente compreende um primeiro polipeptídeo de PD1 ou um seu fragmento (por

exemplo, pelo menos uma porção de um domínio extracelular de PD1), e um segundo polipeptídeo de um domínio de sinalização intracelular descrito aqui (por exemplo, um domínio de sinalização de CD28 descrito aqui e/ou um domínio de sinalização de CD3 zeta descrito aqui). PD1 é um membro inibidor da família de receptores CD28 que também inclui CD28, CTLA-4, ICOS e BTLA. PD-1 é expresso em células B, células T e células mieloides ativadas (Agata *et al.* 1996 *Int. Immunol* 8:765-75). Foi mostrado que dois ligantes para PD1, PD-L1 e PD-L2 subregulam a ativação de células T por ligação a PD1 (Freeman *et al.* 2000 *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman *et al.* 2001 *Nat Immunol* 2:261-8; Carter *et al.* 2002 *Eur J Immunol* 32:634-43). PD-L1 é abundante em cânceres humanos (Dong *et al.* 2003 *J Mol Med* 81:281-7; Blank *et al.* 2005 *Cancer Immunol. Immunother* 54:307-314; Konishi *et al.* 2004 *Clin Cancer Res* 10:5094). A supressão imune pode ser revertida por inibição da interação local de PD1 com PD-L1.

[0552] Em uma modalidade, o agente compreende o domínio extracelular (ECD) de uma molécula inibidora, por exemplo, Morte Programada 1 (PD1), fundido a um domínio de transmembrana e domínios de sinalização intracelulares tais como 41BB e CD3 zeta (também referido aqui como CAR PD1). Em uma modalidade, o CAR PD1, quando usado em combinações com um CAR X descrito aqui, melhora a persistência da célula T. Em uma modalidade, o CAR é um CAR PD1 compreendendo o domínio extracelular de PD1 indicado sublinhado na SEQ ID Nº: 26. Em uma modalidade, o CAR PD1 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 26.

Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyr
mspsnqtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqik
eslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaagga
vhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeee
ggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglyn

elqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr (SEQ ID Nº:26).

[0553] Em uma modalidade, o CAR PD1 compreende a sequência de aminoácidos fornecida abaixo (SEQ ID Nº: 39).

pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrs qpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptah pspsprpaggfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwapla gtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapa ykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseig mkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr (SEQ ID Nº:39).

[0554] Em uma modalidade, o agente compreende uma sequência de ácido nucleico codificando o CAR PD1, por exemplo, o CAR PD1 descrito aqui. Em uma modalidade, a sequência de ácido nucleico para o CAR PD1 é mostrada abaixo, com o ECD de PD1 sublinhado abaixo na SEQ ID Nº: 27.

atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccg gatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtg actgagggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaact ggtaccgcatgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgc aaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgag cgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagccatctcgctggcgcct aaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctgagg tgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgacc actccggcgccgcgcccaccgactccggccccaactatcgcgagccagcccctgtcgctgagg ccggaagcatgccgccctgccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatgcg acatctacatttgggctcctctcgccggaacttgtggcgtgctccttctgtccctggtcatcaccctgta ctgcaagcggggtcggaaaaagcttctgtacattttcaagcagcccttcatgaggcccgtgcaaa ccacccaggaggaggacggttgctcctgccggttccccgaagaggaagaaggaggttgcgag ctgcgcgtgaagttctcccggagcgccgacgcccccgcctataagcagggccagaaccagctg tacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggcc

gggaccccgaaatgggcgggaagcctagaagaaagaaccctcaggaaggcctgtataacga gctgcagaaggacaagatggccgaggcctactccgaaattgggatgaagggagagcggcgg aggggaaaggggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccgccaccaaggacacatacg atgccctgcacatgcaggcccttcccccctcgc (SEQ ID Nº: 27).

[0555] Em outro aspecto, a presente invenção proporciona uma população de células expressando CAR, por exemplo, células CART. Em algumas modalidades, a população de células expressando CAR compreende uma mistura de células expressando diferentes CARs. Por exemplo, em uma modalidade, a população de células CART pode incluir uma primeira célula expressando um CAR tendo um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, e uma segunda célula expressando um CAR tendo um domínio de ligação a antígenos diferente, por exemplo, um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer diferente descrito aqui, por exemplo, um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui que difere do antígeno associado a câncer ligado pelo domínio de ligação a antígenos do CAR expresso pela primeira célula. Como outro exemplo, a população de células expressando CARs pode incluir uma primeira célula expressando um CAR que inclui um domínio de ligação a antígenos para um antígeno associado a câncer descrito aqui, e uma segunda célula expressando um CAR que inclui um domínio de ligação a antígenos para um alvo diferente de um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em uma modalidade, a população de células expressando CAR inclui, por exemplo, uma primeira célula expressando um CAR que inclui um domínio de sinalização intracelular primário, e uma segunda célula expressando um CAR que inclui um domínio de sinalização secundário.

[0556] Em outro aspecto, a presente invenção proporciona uma população de células em que pelo menos uma célula da população expressa um CAR tendo um domínio de ligação a antígenos para um

antígeno associado a câncer descrito aqui, e uma segunda célula expressando outro agente, por exemplo, um agente que intensifica a atividade de uma célula expressando CAR. Por exemplo, em uma modalidade, o agente pode ser um agente que inibe uma molécula inibidora. Moléculas inibidoras, por exemplo, PD-1, podem, em algumas modalidades, diminuir a capacidade de uma célula expressando CAR para montar uma resposta imune efetora. Os exemplos de moléculas inibidoras incluem PD-1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 e TGF beta. Em uma modalidade, o agente que inibe uma molécula inibidora, por exemplo, é uma molécula descrita aqui, por exemplo, um agente que compreende um primeiro polipeptídeo, por exemplo, uma molécula inibidora, associado a um segundo polipeptídeo que fornece um sinal positivo à célula, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular descrito aqui. Em uma modalidade, o agente compreende um primeiro polipeptídeo, por exemplo, de uma molécula inibidora tal como PD-1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 ou TGF beta, ou um fragmento de quaisquer destes, e um segundo polipeptídeo que é um domínio de sinalização intracelular descrito aqui (por exemplo, compreendendo um domínio coestimulador (por exemplo, 41BB, CD27, OX40 ou CD28, por exemplo, como descrito aqui) e/ou um domínio de sinalização primário (por exemplo, um domínio de sinalização de CD3 zeta descrito aqui)). Em uma modalidade, o agente compreende um primeiro polipeptídeo de PD-1 ou um seu fragmento, e um segundo polipeptídeo de um domínio de sinalização intracelular descrito aqui (por exemplo, um domínio de sinalização de CD28 descrito aqui e/ou um domínio de sinalização de CD3 zeta descrito aqui).

[0557] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos

compreendendo administrar uma população de células expressando CARs, por exemplo, células CART, por exemplo, uma mistura de células expressando CARs diferentes, em combinação com outro agente, por exemplo, um inibidor de quinases, tal como um inibidor de quinases descrito aqui. Em outro aspecto, a presente invenção proporciona métodos compreendendo administrar uma população de células em que pelo menos uma célula da população expressa um CAR tendo um domínio de ligação a antígenos de um antígeno associado a câncer descrito aqui, e uma segunda célula expressando outro agente, por exemplo, um agente que intensifica a atividade de uma célula expressando CAR, em combinação com outro agente, por exemplo, um inibidor de quinases, tal como um inibidor de quinases descrito aqui.

Receptores de Antígenos Quiméricos Reguláveis

[0558] Em algumas modalidades, um CAR regulável (RCAR) em que a atividade do CAR pode ser controlada é desejável para otimizar a segurança e eficácia de uma terapia com CAR. Há muitos modos pelos quais as atividades de CARs podem ser reguladas. Por exemplo, a apoptose induzível com o uso de, por exemplo, uma caspase fundida a um domínio de dimerização (consultar, por exemplo, Di *et al., N Egnl. J. Med.* 3 de novembro de 2011; 365(18):1673-1683), pode ser usada como um interruptor de segurança na terapia com CAR da presente invenção. Em um aspecto, um RCAR compreende um conjunto de polipeptídeos, tipicamente dois nas modalidades mais simples, em que os componentes de um CAR padrão descrito aqui, por exemplo, um domínio de ligação a antígenos e um domínio de sinalização intracelular, são particionados em polipeptídeos ou membros separados. Em algumas modalidades, o conjunto de polipeptídeos inclui um interruptor de dimerização que, na presença de uma molécula de dimerização, pode acoplar os polipeptídeos entre si, por exemplo, pode acoplar um

domínio de ligação a antígenos a um domínio de sinalização intracelular.

[0559] Em um aspecto, um RCAR compreende dois polipeptídeos ou membros: 1) um membro de sinalização intracelular que compreende um domínio de sinalização intracelular, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular primário descrito aqui, e um primeiro domínio de interruptor; 2) um membro de ligação a antígenos que compreende um domínio de ligação a antígenos, por exemplo, que visa um antígeno tumoral descrito aqui, conforme descrito aqui, e um segundo domínio de interruptor. Opcionalmente, o RCAR compreende um domínio de transmembrana descrito no presente documento. Em uma modalidade, um domínio de transmembrana pode ser disposto no membro de sinalização intracelular, no membro de ligação a antígenos ou em ambos. (A não ser que indicado de outro modo, quando os membros ou elementos de um RCAR são descritos no presente documento, a ordem pode ser conforme fornecido, mas outras ordens estão também incluídas. Por outras palavras, em uma modalidade, a ordem é conforme definido no texto, mas, em outras modalidades, a ordem pode ser diferente. Por exemplo, a ordem dos elementos em um lado de uma região transmembrana pode ser diferente do exemplo, por exemplo, a colocação de um domínio de interruptor em relação a um domínio de sinalização intracelular pode ser diferente, por exemplo, reversa).

[0560] Em uma modalidade, o primeiro e o segundo domínios de interruptor podem formar um interruptor de dimerização intracelular ou extracelular. Em uma modalidade, o interruptor de dimerização pode ser um interruptor de homodimerização, por exemplo, em que o primeiro e o segundo domínios de interruptor são iguais, ou um interruptor de heterodimerização, por exemplo, em que o primeiro e o segundo domínios de interruptor são diferentes um do outro.

[0561] Nas modalidades, um RCAR pode compreender um "multi-interruptor". Um multi-interruptor pode compreender domínios de

interruptor de heterodimerização ou domínios de interruptor de homodimerização. Um multi-interruptor compreende uma pluralidade de, por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10, domínios de interruptor, independentemente, em um primeiro membro, por exemplo, um membro de ligação a antígenos, e um segundo membro, por exemplo, um membro de sinalização intracelular. Em uma modalidade, o primeiro membro pode compreender uma pluralidade de primeiros domínios de interruptor, por exemplo, domínios de interruptor baseados em FKBP, e o segundo membro pode compreender uma pluralidade de segundos domínios de interruptor, por exemplo, domínios de interruptor baseados em FRB. Em uma modalidade, o primeiro membro pode compreender um primeiro e um segundo domínios de interruptor, por exemplo, um domínio de interruptor baseado em FKBP e um domínio de interruptor baseado em FRB, e o segundo membro pode compreender um primeiro e um segundo domínio de interruptor, por exemplo, um domínio de interruptor baseado em FKBP e um domínio de interruptor baseado em FRB.

[0562] Em uma modalidade, o membro de sinalização intracelular compreende um ou mais domínios de sinalização intracelulares, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular primário e um ou mais domínios de sinalização coestimuladores.

[0563] Em uma modalidade, o membro de ligação a antígenos pode compreender um ou mais domínios de sinalização intracelulares, por exemplo, um ou mais domínios de sinalização coestimuladores. Em uma modalidade, o membro de ligação a antígenos compreende uma pluralidade de, por exemplo, 2 ou 3 domínios de sinalização coestimuladores descritos no presente documento, por exemplo, selecionados dentre 41BB, CD28, CD27, ICOS e OX40, e, em modalidades, nenhum domínio de sinalização intracelular primário. Em uma modalidade, o membro de ligação a antígenos compreende os

seguintes domínios de sinalização coestimuladores, na direção extracelular para intracelular: 41BB-CD27; 41BB-CD27; CD27-41BB; 41BB-CD28; CD28-41BB; OX40-CD28; CD28-OX40; CD28-41BB; ou 41BB-CD28. Em tais modalidades, o membro de ligação intracelular compreende um domínio CD3zeta. Em tal uma modalidade, o RCAR compreende (1) um membro de ligação a antígenos que compreende um domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e dois domínios coestimuladores e um primeiro domínio de interruptor; e (2) um domínio de sinalização intracelular que compreende um domínio de transmembrana ou domínio de ligação de membrana e pelo menos um domínio de sinalização intracelular primário e um segundo domínio de interruptor.

[0564] Uma modalidade fornece RCARs em que o membro de ligação a antígenos não é ligado à superfície da célula CAR. Isso permite que uma célula que tem um membro de sinalização intracelular seja convenientemente pareada com um ou mais domínios de ligação a antígenos, sem transformar a célula com uma sequência que codifica o membro de ligação a antígenos. Em tais modalidades, o RCAR compreende: 1) um membro de sinalização intracelular que compreende: um primeiro domínio de interruptor, um domínio de transmembrana, um domínio de sinalização intracelular, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular primário, e um primeiro domínio de interruptor; e 2) um membro de ligação a antígenos que compreende: um domínio de ligação a antígenos e um segundo domínio de interruptor, em que o membro de ligação a antígenos não compreende um domínio de transmembrana ou domínio de ligação de membrana e, opcionalmente, não compreende um domínio de sinalização intracelular. Em algumas modalidades, o RCAR pode compreender adicionalmente 3) um segundo membro de ligação a antígenos que compreende: um segundo domínio de ligação a antígenos, por exemplo,

um segundo domínio de ligação a antígenos que se liga a um antígeno diferente que é ligado pelo domínio de ligação a antígenos; e um segundo domínio de interruptor.

[0565] São também fornecidos no presente documento RCARs em que o membro de ligação a antígenos compreende ativação biespecífica e capacidade de alvejamento. Nessa modalidade, o membro de ligação a antígenos pode compreender uma pluralidade de, por exemplo, 2, 3, 4 ou 5 domínios de ligação a antígenos, por exemplo, scFvs, em que cada domínio de ligação a antígenos se liga a um antígeno-alvo, por exemplo, diferentes antígenos ou ao mesmo antígeno, por exemplo, epítopos iguais ou diferentes no mesmo antígeno. Em uma modalidade, a pluralidade de domínios de ligação a antígenos está em tandem, e, opcionalmente, um ligante ou região de dobradiça é disposta entre cada um dos domínios de ligação a antígenos. Os ligantes e regiões de dobradiça adequados são descritos no presente documento.

[0566] Uma modalidade fornece RCARs com uma configuração que permite a comutação da proliferação. Nessa modalidade, o RCAR compreende: 1) um membro de sinalização intracelular que compreende: opcionalmente, um domínio de transmembrana ou domínio de ligação de membrana; um ou mais domínios de sinalização coestimuladores, por exemplo, selecionados dentre 41BB, CD28, CD27, ICOS e OX40, e um domínio de interruptor; e 2) um membro de ligação a antígenos que compreende: um domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular primário, por exemplo, um domínio CD3zeta, em que o membro de ligação a antígenos não compreende um domínio de interruptor ou não compreende um domínio de interruptor que dimeriza com um domínio de interruptor no membro de sinalização intracelular. Em uma modalidade, o membro de ligação a antígenos não compreende um domínio de sinalização coestimulador. Em uma modalidade, o membro

de sinalização intracelular compreende um domínio de interruptor de um interruptor de homodimerização. Em uma modalidade, o membro de sinalização intracelular compreende um primeiro domínio de interruptor de um interruptor de heterodimerização e o RCAR compreende um segundo membro de sinalização intracelular que compreende um segundo domínio de interruptor do interruptor de heterodimerização. Em tais modalidades, o segundo membro de sinalização intracelular compreende os mesmos domínios de sinalização intracelulares do membro de sinalização intracelular. Em uma modalidade, o interruptor de dimerização é intracelular. Em uma modalidade, o interruptor de dimerização é extracelular.

[0567] Em quaisquer configurações de RCAR descritas aqui, o primeiro e o segundo domínios de interruptor compreendem um interruptor baseado em FKBP-FRB conforme descrito no presente documento.

[0568] São também fornecidas aqui células que compreendem um RCAR descrito no presente documento. Qualquer célula que é modificada para expressar um RCAR pode ser usada como uma célula RCARX. Em uma modalidade, a célula RCARX é uma célula T, e é referida como uma célula RCART. Em uma modalidade, a célula RCARX é uma célula NK e é referida como uma célula RCARN.

[0569] São também fornecidos no presente documento ácidos nucleicos e vetores que compreendem sequências de codificação de RCAR. A sequência que codifica vários elementos de um RCAR pode ser disposta na mesma molécula de ácido nucleico, por exemplo, o mesmo plasmídeo ou vetor, por exemplo, vetor viral, por exemplo, vetor lentiviral. Em uma modalidade, (i) a sequência que codifica um membro de ligação a antígenos e (ii) a sequência que codifica um membro de sinalização intracelular podem estar presentes no mesmo ácido nucleico, por exemplo, vetor. A produção das proteínas correspondentes pode ser

alcançada, por exemplo, pelo uso de promotores separados ou pelo uso de um produto de transcrição bicistrônica (que pode resultar na produção de duas proteínas pela clivagem de um único produto de tradução ou pela tradução de dois produtos de proteína separados). Em uma modalidade, uma sequência que codifica um peptídeo clivável, por exemplo, uma sequência P2A ou F2A, é disposta entre (i) e (ii). Exemplos de sítios de clivagem de peptídeos incluem os seguintes, nos quais os resíduos GSG são opcionais:

T2A: (GSG) E G R G S L L T C G D V E E N P G P (SEQ ID Nº: 68)

P2A: (GSG) A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (SEQ ID Nº: 69)

E2A: (GSG) Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID Nº: 70)

F2A: (GSG) V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID Nº: 71)

[0570] Em uma modalidade, uma sequência que codifica um IRES, por exemplo, um IRES EMCV ou EV71, é disposta entre (i) e (ii). Nessas modalidades, (i) e (ii) são transcritos como um único RNA. Em uma modalidade, um primeiro promotor é ligado de maneira funcional a (i) e um segundo promotor é ligado de maneira funcional a (ii), de modo que (i) e (ii) sejam transcritos como mRNAs separados.

[0571] Alternativamente, a sequência que codifica vários elementos de um RCAR pode ser disposta nas diferentes moléculas de ácido nucleico, por exemplo, diferentes plasmídeos ou vetores, por exemplo, vetor viral, por exemplo, vetor lentiviral. Por exemplo, a sequência (i) que codifica um membro de ligação a antígenos pode estar presente em um primeiro ácido nucleico, por exemplo, um primeiro vetor, e a sequência (ii) que codifica um membro de sinalização intracelular pode estar presente no segundo ácido nucleico, por exemplo, o segundo vetor.

Interruptores de Dimerização

[0572] Os interruptores de dimerização podem ser não covalentes ou covalentes. Em um interruptor de dimerização não covalente, a molécula de dimerização promove uma interação não covalente entre

os domínios de interruptor. Em um interruptor de dimerização covalente, a molécula de dimerização promove uma interação covalente entre os domínios de interruptor.

[0573] Em uma modalidade, o RCAR compreende um interruptor de dimerização baseado em FKBP/FRAP ou FKBP/FRB. FKBP12 (FKBP ou proteína de ligação de FK506) é uma proteína citoplasmática abundante que serve como o alvo intracelular inicial para o fármaco imunossupressor de produto natural, rapamicina. A rapamicina se liga a FKBP e ao FRAP de homólogo de PI3K grande (RAFT, mTOR). FRB é uma porção de 93 aminoácidos de FRAP, que é suficiente para se ligar ao complexo de FKBP-rapamicina (Chen, J., Zheng, X. F., Brown, E. J. & Schreiber, S. L. (1995) "Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycin-binding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein and characterization of a critical serine residue". *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 4947-51).

[0574] Nas modalidades, um interruptor baseado em FKBP/FRAP, por exemplo, FKBP/FRB, pode usar uma molécula de dimerização, por exemplo, rapamicina ou um análogo de rapamicina.

[0575] A sequência de aminoácidos de FKBP é a seguinte:

D V P D Y A S L G G P S S P K K K R K V S R G V Q V E T I S P G D G R T F P K R G Q T C V V H Y T G M L E D G K K F D S S R D R N K P F K F M L G K Q E V I R G W E E G V A Q M S V G Q R A K L T I S P D Y A Y G A T G H P G I I P P H A T L V F D V E L L K L E T S Y (SEQ ID Nº: 54)

[0576] Em modalidades, um domínio de interruptor de FKBP pode compreender um fragmento de FKBP tendo a capacidade para se ligar a FRB, ou um seu fragmento ou análogo, na presença de rapamicina ou um rapálogo, por exemplo, a porção sublinhada de SEQ ID Nº: 54, que é:

V Q V E T I S P G D G R T F P K R G Q T C V V H Y T G M L E D G K

K F D S S R D R N K P F K F M L G K Q E V I R G W E E G V A Q M S V G Q R A K L T I S P D Y A Y G A T G H P G I I P P H A T L V F D V E L L K L E T S (SEQ ID Nº:55)

[0577] A sequência de aminoácidos de FRB é a seguinte: ILWHEMWHEG LEEASRLYFG ERNVKGMFEV LEPLHAMMER GPQTLKETSF NQAYGRDLME AQEWCRKYMK SGNVKDLTQA WDLYYHVFRR ISK (SEQ ID Nº: 56)

[0578] "Interruptor baseado em FKBP/FRAP, por exemplo, FKBP/FRB", como esse termo é usado no presente documento, refere-se a um interruptor de dimerização que compreende: um primeiro domínio de interruptor, que compreende um fragmento de FKBP ou seu análogo tendo a capacidade para se ligar a FRB, ou um seu fragmento ou análogo, na presença de rapamicina ou um rapálogo, por exemplo, RAD001, e tem pelo menos 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 ou 99% de identidade com, ou difere em não mais do que 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2 ou 1 resíduos de aminoácidos de, a sequência FKBP de SEQ ID Nº: 54 ou 55; e um segundo domínio de interruptor, que compreende um fragmento de FRB ou seu análogo tendo a capacidade para se ligar a FRB, ou um seu fragmento ou análogo, na presença de rapamicina ou um rapálogo, e tem pelo menos 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 ou 99% de identidade com, ou difere em não mais do que 30, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2 ou 1 resíduos de aminoácidos de, a sequência FRB de SEQ ID Nº: 56. Em uma modalidade, um RCAR descrito no presente documento compreende um domínio de interruptor que compreende os resíduos de aminoácido revelados na SEQ ID Nº: 54 (ou SEQ ID Nº: 55), e um domínio de interruptor compreende resíduos de aminoácidos revelados em SEQ ID Nº: 56.

[0579] Nas modalidades, o interruptor de dimerização FKBP/FRB compreende um domínio de interruptor FRB modificado que exibe formação de complexo alterada, por exemplo, intensificada, entre um

domínio de interruptor baseado em FRB, por exemplo, o domínio de interruptor FRB modificado, um domínio de interruptor baseado em FKBP e a molécula de dimerização, por exemplo, rapamicina ou um rapálogo, por exemplo, RAD001. Em uma modalidade, o domínio de interruptor FRB modificado compreende uma ou mais mutações, por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais, selecionadas das mutações na(s) posição(ões) de aminoácidos L2031, E2032, S2035, R2036, F2039, G2040, T2098, W2101, D2102, Y2105 e F2108, em que o aminoácido do tipo selvagem é mutado para qualquer outro aminoácido de ocorrência natural. Em uma modalidade, uma FRB mutante compreende uma mutação em E2032, em que E2032 é mutado para fenilalanina (E2032F), metionina (E2032M), arginina (E2032R), valina (E2032V), tirosina (E2032Y), isoleucina (E2032I), por exemplo, SEQ ID Nº: 57, ou leucina (E2032L), por exemplo, SEQ ID Nº: 58. Em uma modalidade, uma FRB mutante compreende uma mutação em T2098, em que T2098 é mutado para fenilalanina (T2098F) ou leucina (T2098L), por exemplo, SEQ ID Nº: 59. Em uma modalidade, uma FRB mutante compreende uma mutação em E2032 e em T2098, em que E2032 é mutado para qualquer aminoácido, e em que T2098 é mutado para qualquer aminoácido, por exemplo, SEQ ID Nº: 60. Em uma modalidade, uma FRB mutante compreende uma mutação E2032I e T2098L, por exemplo, SEQ ID Nº: 61. Em uma modalidade, uma FRB mutante compreende uma mutação E2032L e T2098L, por exemplo, SEQ ID Nº: 62.

Tabela 10. FRB mutantes exemplificativas tendo afinidade aumentada para uma molécula de dimerização

Mutante de FRB	Sequência de Aminoácidos	SEQ ID Nº:
E2032I mutante	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQ TLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKTS	57
E2032L mutante	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQ TLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYY HVFRRISKTS	58
T2098L mutante	ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGP QTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLY YHVFRRISKTS	59
E2032, T2098 mutante	ILWHEMWHEGL**X**EASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGP QTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDL**X**QAWDLY YHVFRRISKTS	60
E2032I, T2098L mutante	ILWHEMWHEGLIEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQ TLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKTS	61
E2032L, T2098L mutante	ILWHEMWHEGLLEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQ TLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYY HVFRRISKTS	62

[0580] Outros interruptores de dimerização adequados incluem um interruptor de dimerização baseado em GyrB-GyrB, um interruptor de dimerização baseado em Giberelina, um interruptor de dimerização de etiqueta/aglutinante e um interruptor de dimerização de etiqueta halo/etiqueta snap. Seguindo a orientação fornecida no presente documento, tais interruptores e moléculas de dimerização relevantes serão evidentes para uma pessoa de habilidade comum na técnica.

Molécula de Dimerização

[0581] A associação entre os domínios de interruptor é promovida pela molécula de dimerização. Na presença da molécula de dimerização, a interação ou associação entre os domínios de interruptor permite a transdução de sinal entre um polipeptídeo associado, por exemplo, fundido, a um primeiro domínio de interruptor e um

polipeptídeo associado, por exemplo, fundido, a um segundo domínio de interruptor. Na presença de níveis não limitantes de molécula de dimerização, a transdução de sinal é aumentada em 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2, 5, 10, 50, 100 vezes, por exemplo, conforme medido em um sistema descrito no presente documento.

[0582] Rapamicina e análogos de rapamicina (algumas vezes denominados rapálogos), por exemplo, RAD001, podem ser usados como moléculas de dimerização em um interruptor de dimerização baseado em FKBP/FRB descrito no presente documento. Em uma modalidade, a molécula de dimerização pode ser selecionada dentre rapamicina (sirolimus), RAD001 (everolimus), zotarolimus, temsirolimus, AP-23573 (ridaforolimus), biolimus e AP21967. Análogos de rapamicina adicionais adequados para uso com interruptores de dimerização baseados em FKBP/FRB são adicionalmente descritos na seção intitulada "Terapias de Combinação" ou na subseção intitulada "Inibidores de mTOR exemplificativos".

CAR dividido

[0583] Em algumas modalidades, a célula expressando CAR usa um CAR dividido. A abordagem de CAR dividido é descrita em mais detalhe nas publicações WO2014/055442 e WO2014/055657. Em resumo, um sistema CAR dividido compreende uma célula expressando um primeiro CAR tendo um primeiro domínio de ligação a antígenos e um domínio coestimulador (por exemplo, 41BB), e a célula também expressa um segundo CAR tendo um segundo domínio de ligação a antígenos e um domínio de sinalização intracelular (por exemplo, CD3 zeta). Quando a célula encontra o primeiro antígeno, o domínio coestimulador é ativado, e a célula prolifera. Quando a célula encontra o segundo antígeno, o domínio de sinalização intracelular é ativado e a atividade de morte celular começa. Assim, a célula expressando CAR é totalmente ativada apenas na presença de ambos os antígenos.

Transfecção de RNA

[0584] São aqui revelados métodos para produzir um RNA de CAR transcrito *in vitro*. A presente invenção também inclui um construto de RNA codificando CAR que pode ser diretamente transfectado em uma célula. Um método para gerar mRNA para uso em transfecção pode envolver transcrição *in vitro* (IVT) de um modelo com iniciadores especialmente planejados, seguido de adição de poliA, para produzir um construto contendo sequências 3' e 5' não traduzidas ("UTR"), um "cap" 5' e/ou Sítio Interno de Entrada do Ribossomo (IRES), o ácido nucleico a ser expresso, e uma cauda poliA, tipicamente com 50-2000 bases de comprimento (SEQ ID Nº:32) O RNA produzido deste modo pode transfectar eficientemente diferentes tipos de células. Em um aspecto, o modelo inclui sequências para o CAR.

[0585] Em um aspecto, um CAR da presente invenção é codificado por um RNA mensageiro (mRNA). Em um aspecto, o mRNA codificando um CAR descrito aqui é introduzido em uma célula efetora imune, por exemplo, uma célula T ou uma célula NK, para produção de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula CART ou uma célula NK CAR.

[0586] Em uma modalidade, o RNA de CAR transcrito *in vitro* pode ser introduzido em uma célula como uma forma de transfecção transiente. O RNA é produzido por transcrição *in vitro* usando um modelo gerado por reação em cadeia de polimerase (PCR). DNA de interesse de qualquer fonte pode ser diretamente convertido por PCR em um modelo para síntese de mRNA *in vitro* usando iniciadores apropriados e RNA polimerase. A fonte do DNA pode ser, por exemplo, DNA genômico, DNA plasmídico, DNA fágico, cDNA, sequência de DNA sintética ou qualquer outra fonte apropriada de DNA. O modelo desejado para transcrição *in vitro* é um CAR descrito aqui. Por exemplo, o modelo para o RNA de CAR compreende uma região extracelular

compreendendo um domínio variável de cadeia simples de um anticorpo para um antígeno associado a tumor descrito aqui; uma região de dobradiça (por exemplo, uma região de dobradiça descrita aqui), um domínio de transmembrana (por exemplo, um domínio de transmembrana descrito aqui tal como um domínio de transmembrana de CD8a); e uma região citoplasmática que inclui um domínio de sinalização intracelular, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular descrito aqui, por exemplo, compreendendo o domínio de sinalização de CD3-zeta e o domínio de sinalização de 4-1BB.

[0587] Em uma modalidade, o DNA a ser usado para PCR contém um quadro de leitura aberto. O DNA pode provir de uma sequência de DNA de ocorrência natural do genoma de um organismo. Em uma modalidade, o ácido nucleico pode incluir algumas ou todas as regiões 5' e/ou 3' não traduzidas (UTRs). O ácido nucleico pode incluir éxons e íntrons. Em uma modalidade, o DNA a ser usado para PCR é uma sequência de ácido nucleico humana. Em outra modalidade, o DNA a ser usado para PCR é uma sequência de ácido nucleico humana incluindo as 5' e 3' UTRs. O DNA pode alternativamente ser uma sequência de DNA artificial que não é normalmente expressa em um organismo de ocorrência natural. Uma sequência de DNA artificial exemplificativa é tal que contém porções de genes que são ligadas em conjunto para formar um quadro de leitura aberto que codifica uma proteína de fusão. As porções de DNA que são ligadas em conjunto podem provir de um único organismo ou de mais do que um organismo.

[0588] PCR é usada para gerar um modelo para transcrição *in vitro* de mRNA que é usado para transfecção. Métodos para realizar PCR são bem conhecidos na técnica. Iniciadores para uso em PCR são planejados de modo a terem regiões que são substancialmente complementares a regiões do DNA a ser usado como modelo para a PCR. "Substancialmente complementares", como usado aqui, se

relaciona com sequências de nucleotídeos nas quais a maioria ou todas as bases da sequência iniciadora são complementares, ou uma ou mais bases não são complementares, ou emparelham de modo defeituoso. Sequências substancialmente complementares são capazes de emparelhar ou hibridar com o alvo de DNA pretendido sob condições de emparelhamento usadas para PCR. Os iniciadores podem ser planejados de modo a serem substancialmente complementares a qualquer porção do modelo de DNA. Por exemplo, os iniciadores podem ser planejados para amplificarem a porção de um ácido nucleico que é normalmente transcrita em células (o quadro de leitura aberto), incluindo 5' e 3' UTRs. Os iniciadores também podem ser planejados para amplificarem uma porção de um ácido nucleico que codifica um domínio de interesse particular. Em uma modalidade, os iniciadores são planejados para amplificarem a região codificadora de um cDNA humano, incluindo a totalidade ou porções das 5' e 3' UTRs. Iniciadores úteis para PCR podem ser gerados por métodos sintéticos que são bem conhecidos na técnica. "Iniciadores diretos" são iniciadores que contêm uma região de nucleotídeos que são substancialmente complementares a nucleotídeos no modelo de DNA que estão a montante da sequência de DNA a ser amplificada. "A montante" é usado aqui para referir uma localização 5' à sequência de DNA a ser amplificada relativamente à fita codificadora. "Iniciadores reversos" são iniciadores que contêm uma região de nucleotídeos que são substancialmente complementares a um modelo de DNA de fita dupla que estão a jusante da sequência de DNA a ser amplificada. "A jusante" é usado aqui para referir uma localização 3' à sequência de DNA a ser amplificada relativamente à fita codificadora.

[0589] Qualquer DNA polimerase útil para PCR pode ser usada nos métodos revelados aqui. Os reagentes e polimerase são disponibilizados comercialmente por algumas fontes.

[0590] Estruturas químicas com capacidade para promover a estabilidade e/ou eficiência da tradução também podem ser usadas. O RNA tem preferencialmente 5' e 3' UTRs. Em uma modalidade, a 5' UTR tem entre um e 3000 nucleotídeos de comprimento. O comprimento de sequências 5' e 3' UTR a serem adicionadas à região codificadora pode ser alterado por diferentes métodos, incluindo, mas não se limitando a, planejamento de iniciadores para PCR que emparelham com diferentes regiões das UTRs. Usando esta abordagem, o perito na técnica pode modificar os comprimentos das 5' e 3' UTR requeridos para se obter uma eficiência ótima da tradução após transfecção do RNA transcrito.

[0591] As 5' e 3' UTRs podem ser as 5' e 3' UTRs endógenas de ocorrência natural para o ácido nucleico de interesse. Alternativamente, sequências UTR que não são endógenas ao ácido nucleico de interesse podem ser adicionadas por incorporação das sequências UTR nos iniciadores diretos e reversos ou por quaisquer outras modificações do modelo. O uso de sequências UTR que não são endógenas ao ácido nucleico de interesse pode ser útil para modificar a estabilidade e/ou eficiência da tradução do RNA. Por exemplo, é conhecido que elementos ricos em AU em sequências 3' UTR podem decrescer a estabilidade de mRNA. Em consequência, 3' UTRs podem ser selecionadas ou planejadas para aumentar a estabilidade do RNA transcrito com base em propriedades de UTRs que são bem conhecidas na técnica.

[0592] Em uma modalidade, a 5' UTR pode conter a sequência de Kozak do ácido nucleico endógeno. Alternativamente, quando uma 5' UTR que não é endógena ao ácido nucleico de interesse está sendo adicionada por PCR como descrito acima, uma sequência de consenso de Kozak pode ser replanejada por adição da sequência 5' UTR. Sequências de Kozak podem aumentar a eficiência da tradução de alguns transcritos de RNA, mas não aparentam ser requeridas para

todos os RNAs para permitir uma tradução eficiente. O requisito de sequências de Kozak para muitos mRNAs é conhecido na técnica. Em outras modalidades, a 5' UTR pode ser 5'UTR de um vírus RNA cujo genoma de RNA é estável em células. Em outras modalidades, vários análogos de nucleotídeos podem ser usados na 3' ou 5' UTR para impedir a degradação do mRNA por exonucleases.

[0593] Para permitir a síntese de RNA a partir de um modelo de DNA sem a necessidade de clonagem de genes, um promotor da transcrição deve ser adicionado ao modelo de DNA a montante da sequência a ser transcrita. Quando uma sequência que atua como um promotor para uma RNA polimerase é adicionada à extremidade 5' do iniciador direto, o promotor de RNA polimerase fica incorporado no produto de PCR a montante do quadro de leitura aberto a ser transcrito. Em uma modalidade preferencial, o promotor é um promotor de polimerase de T7, como descrito aqui noutro local. Outros promotores úteis incluem, mas não se limitam a, promotores de RNA polimerase de T3 e SP6. Sequências de nucleotídeos de consenso para promotores de T7, T3 e SP6 são conhecidas na técnica.

[0594] Em uma modalidade preferencial, o mRNA tem um *cap* na extremidade 5' e uma cauda 3' poli(A) que determinam a ligação de ribossomos, iniciação da tradução e estabilidade do mRNA na célula. Em um modelo de DNA circular, por exemplo, DNA plasmídico, RNA polimerase origina um produto concatamérico longo que não é adequado para expressão em células eucarióticas. A transcrição de DNA plasmídico linearizado na extremidade da 3' UTR origina mRNA de tamanho normal que não é eficaz em transfecção eucariótica mesmo que seja poliadenilado após a transcrição.

[0595] Em um modelo de DNA linear, RNA polimerase do fago T7 pode prolongar a extremidade 3' do transcrito para além da última base do modelo (Schenborn e Mierendorf, *Nuc Acids Res.*, 13:6223-36 (1985);

Nacheva e Berzal-Herranz, *Eur. J. Biochem.*, 270:1485-65 (2003)).

[0596] O método convencional de integração de extensões poliA/T em um modelo de DNA é clonagem molecular. No entanto, uma sequência poliA/T integrada em DNA plasmídico pode causar instabilidade do plasmídeo, motivo pelo qual modelos de DNA plasmídico obtidos de células bacterianas são muitas vezes altamente contaminados com deleções e outras aberrações. Tal torna os procedimentos de clonagem não só trabalhosos e demorados, mas muitas vezes não fiáveis. É por isso que é altamente desejável um método que permita a construção de modelos de DNA com extensão 3' poliA/T sem clonagem.

[0597] O segmento poliA/T do modelo de DNA de transcrição pode ser produzido durante PCR por uso de um iniciador reverso contendo uma cauda poliT, tal como cauda 100T (SEQ ID Nº: 35) (o tamanho pode ser 50-5000 T (SEQ ID Nº: 36)), ou após PCR por qualquer outro método, incluindo, mas não se limitando a, ligação de DNA ou recombinação *in vitro*. Caudas poli(A) também proporcionam estabilidade a RNAs e reduzem a sua degradação. Geralmente, o comprimento de uma cauda poli(A) está positivamente correlacionado com a estabilidade do RNA transcrito. Em uma modalidade, a cauda poli(A) tem entre 100 e 5000 adenosinas (SEQ ID Nº: 37).

[0598] Caudas poli(A) de RNAs podem ser adicionalmente estendidas após transcrição *in vitro* com o uso de uma poli(A) polimerase, tal como poliA polimerase de *E. coli* (E-PAP). Em uma modalidade, o aumento do comprimento de uma cauda poli(A) de 100 nucleotídeos para entre 300 e 400 nucleotídeos (SEQ ID Nº: 38) origina um aumento de cerca de duas vezes da eficiência da tradução do RNA. Adicionalmente, a ligação de diferentes grupos químicos à extremidade 3' pode aumentar a estabilidade do mRNA. Tal ligação pode conter nucleotídeos modificados/artificiais, aptâmeros e outros compostos. Por

exemplo, análogos de ATP podem ser incorporados na cauda poli(A) usando poli(A) polimerase. Análogos de ATP podem aumentar adicionalmente a estabilidade do RNA.

[0599] *Caps* 5' também proporcionam estabilidade a moléculas de RNA. Em uma modalidade preferencial, RNAs produzidos pelos métodos revelados aqui incluem um *cap* 5'. O *cap* 5' é proporcionado usando técnicas conhecidas na técnica e descritas aqui (Cougot, *et al., Trends in Biochem. Sci.*, 29:436-444 (2001); Stepinski, *et al., RNA*, 7:1468-95 (2001); Elango, *et al., Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 330:958-966 (2005)).

[0600] Os RNAs produzidos pelos métodos revelados aqui também podem conter uma sequência de sítio interno de entrada do ribossomo (IRES). A sequência IRES pode ser qualquer sequência viral, cromossômica ou artificialmente planejada que inicia ligação do ribossomo independente de *cap* a mRNA e facilita a iniciação da tradução. Podem ser incluídos quaisquer solutos adequados para a eletroporação de células, que podem conter fatores que facilitam a permeabilidade e viabilidade celulares, tais como açúcares, peptídeos, lipídeos, proteínas, antioxidantes e surfactantes.

[0601] RNA pode ser introduzido em células-alvo usando qualquer um de alguns métodos diferentes, por exemplo, métodos comercialmente disponíveis que incluem, mas não se limitam a, eletroporação (Amaxa Nucleofector-II (Amaxa Biosystems, Colônia, Alemanha)), (ECM 830 (BTX) (Harvard Instruments, Boston, Mass.) ou o Gene Pulser II (BioRad, Denver, Colo.), Multiporator (Eppendort, Hamburgo Alemanha), transfecção mediada por lipossomos catiônicos usando lipofecção, encapsulação de polímeros, transfecção mediada por peptídeos ou sistemas de administração biolística de partículas tais como "armas de genes" (ver, por exemplo, Nishikawa, *et al. Hum Gene Ther.*, 12(8):861-70 (2001).

Métodos de Administração Não Virais

[0602] Em alguns aspectos, métodos não virais podem ser usados para administrar um ácido nucleico codificando um CAR descrito aqui em uma célula ou tecido ou um sujeito.

[0603] Em algumas modalidades, o método não viral inclui o uso de um transpóson (também denominado elemento de transposição). Em algumas modalidades, um transpóson é um pedaço de DNA que pode se inserir em uma localização em um genoma, por exemplo, um pedaço de DNA que é capaz de se autorreplicar e inserir a sua cópia em um genoma, ou um pedaço de DNA que pode ser removido de um ácido nucleico mais longo e inserido em outro lugar em um genoma. Por exemplo, um transpóson compreende uma sequência de DNA constituída por repetições invertidas flanqueando genes para transposição.

[0604] Métodos exemplificativos de administração de ácidos nucleicos usando um transpóson incluem um sistema de transpóson Bela Adormecida (SBTS) e um sistema de transpóson PiggyBac (PB). Ver, por exemplo, Aronovich *et al. Hum. Mol. Genet*. 20.R1(2011):R14-20; Singh *et al. Cancer Res*. 15(2008):2961–2971; Huang *et al. Mol. Ther.* 16(2008):580–589; Grabundzija *et al. Mol. Ther*. 18(2010):1200–1209; Kebriaei *et al. Blood*. 122.21(2013):166; Williams. *Molecular Therapy* 16.9(2008):1515–16; Bell *et al. Nat. Protoc.* 2.12(2007):3153-65; e Ding *et al. Cell*. 122.3(2005):473-83, todos os quais são incorporados aqui por referência.

[0605] O SBTS inclui dois componentes: 1) um transpóson contendo um transgene e 2) uma fonte de enzima transposase. A transposase pode efetuar transposição do transpóson de um plasmídeo transportador (ou outro DNA doador) para um DNA-alvo, tal como cromossomo/genoma de uma célula hospedeira. Por exemplo, a transposase se liga ao plasmídeo transportador/DNA doador, corta o

transpóson (incluindo transgene(s)) removendo-o do plasmídeo, e insere-o no genoma da célula hospedeira. Ver, por exemplo, Aronovich *et al. supra.*

[0606] Transpósons exemplificativos incluem um transpóson à base de pT2. Ver, por exemplo, Grabundzija e*t al. Nucleic Acids Res.* 41.3(2013):1829-47; e Singh *et al. Cancer Res.* 68.8(2008): 2961–2971, todos os quais são incorporados aqui por referência. Transposases exemplificativas incluem uma transposase do tipo Tc1/mariner, por exemplo, a transposase SB10 ou a transposase SB11 (uma transposase hiperativa que pode ser expressa, por exemplo, a partir de um promotor de citomegalovírus). Ver, por exemplo, Aronovich *et al.*; Kebriaei *et al.*; e Grabundzija *et al.*, todos os quais são incorporados aqui por referência.

[0607] O uso do SBTS permite integração e expressão eficientes de um transgene, por exemplo, um ácido nucleico codificando um CAR descrito aqui. São proporcionados aqui métodos de geração de uma célula, por exemplo, célula T ou célula NK, que expressa de modo estável um CAR descrito aqui, por exemplo, usando um sistema de transpóson tal como SBTS.

[0608] De acordo com métodos descritos aqui, em algumas modalidades, um ou mais ácidos nucleicos, por exemplo, plasmídeos, contendo os componentes de SBTS são administrados a uma célula (por exemplo, célula T ou NK). Por exemplo, o(s) ácido(s) nucleico(s) é(são) administrado(s) por métodos padrão de administração de ácidos nucleicos (por exemplo, DNA plasmídico), por exemplo, métodos descritos aqui, por exemplo, eletroporação, transfecção ou lipofecção. Em algumas modalidades, o ácido nucleico contém um transpóson compreendendo um transgene, por exemplo, um ácido nucleico codificando um CAR descrito aqui. Em algumas modalidades, o ácido nucleico contém um transpóson compreendendo um transgene (por

exemplo, um ácido nucleico codificando um CAR descrito aqui) bem como uma sequência de ácido nucleico codificando uma enzima transposase. Em outras modalidades é proporcionado um sistema com dois ácidos nucleicos, por exemplo, um sistema plasmídico dual, por exemplo, em que um primeiro plasmídeo contém um transpóson compreendendo um transgene, e um segundo plasmídeo contém uma sequência de ácido nucleico codificando uma enzima transposase. Por exemplo, o primeiro e o segundo ácidos nucleicos são coadministrados em uma célula hospedeira.

[0609] Em algumas modalidades, células, por exemplo, células T ou NK, são geradas que expressam um CAR descrito aqui por uso de uma combinação de inserção de genes usando o SBTS e edição genética usando uma nuclease (por exemplo, nucleases dedos de Zinco (ZFNs), Nucleases Efetoras do Tipo Ativador da Transcrição (TALENs), o sistema CRISPR/Cas ou endonucleases de endereçamento remanipuladas por meganuclease manipulada).

[0610] Em algumas modalidades, o uso de um método não viral de administração permite a reprogramação de células, por exemplo, células T ou NK, e infusão direta das células em um sujeito. Vantagens de vetores não virais incluem, mas não se limitam à, facilidade e custo relativamente baixo da produção de quantidades suficientes requeridas para prover uma população de pacientes, estabilidade durante a armazenagem e ausência de imunogenicidade.

Construtos de Ácido Nucleico Codificando um CAR

[0611] A presente invenção também fornece moléculas de ácido nucleico que codificam um ou mais construtos de CAR descritos no presente documento. Em um aspecto, a molécula de ácido nucleico é proporcionada como um transcrito de RNA mensageiro. Em um aspecto, a molécula de ácido nucleico é proporcionada como um construto de DNA.

[0612] Em conformidade, em um aspecto, a invenção se relaciona com uma molécula de ácido nucleico codificando um receptor de antígenos quimérico (CAR), em que o CAR compreende um domínio de ligação a antígenos que se liga a um antígeno tumoral descrito aqui, um domínio de transmembrana (por exemplo, um domínio de transmembrana descrito aqui), e um domínio de sinalização intracelular (por exemplo, um domínio de sinalização intracelular descrito aqui) compreendendo um domínio estimulador, por exemplo, um domínio de sinalização coestimulador (por exemplo, um domínio de sinalização coestimulador descrito aqui) e/ou um domínio de sinalização primário (por exemplo, um domínio de sinalização primário descrito aqui, por exemplo, uma cadeia zeta descrita aqui). Em uma modalidade, o domínio de transmembrana é o domínio de transmembrana de uma proteína selecionada do grupo consistindo na cadeia alfa, beta ou zeta do receptor de células T, CD28, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 e CD154. Em algumas modalidades, um domínio de transmembrana pode incluir pelo menos a(s) região(ões) transmembrana, por exemplo, de KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R beta, IL2R gama, IL7R α, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11l, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp.

[0613] Em uma modalidade, o domínio de transmembrana

compreende uma sequência de SEQ ID Nº: 12, ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquela. Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos é conectado ao domínio de transmembrana por uma região de dobradiça, por exemplo, uma região de dobradiça descrita aqui. Em uma modalidade, a região de dobradiça compreende a SEQ ID Nº:4 ou SEQ ID Nº:6 ou SEQ ID Nº:8 ou SEQ ID Nº:10, ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquelas. Em uma modalidade, a molécula de ácido nucleico isolada compreende adicionalmente uma sequência codificando um domínio coestimulador. Em uma modalidade, o domínio coestimulador é um domínio de sinalização funcional de uma proteína selecionada do grupo consistindo em OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278); e 4-1BB (CD137). Exemplos adicionais de tais moléculas coestimuladoras incluem CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL2R beta, IL2R gama, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11l, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76 e PAG/Cbp. Em uma modalidade, o domínio coestimulador compreende uma sequência de SEQ ID Nº:16, ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquela. Em uma modalidade, o domínio de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização funcional de 4-1BB e um domínio de sinalização funcional de CD3 zeta. Em uma modalidade, o domínio de sinalização intracelular compreende a sequência de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID

Nº:16, ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquelas, e a sequência de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº:20, ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquelas, em que as sequências compreendendo o domínio de sinalização intracelular são expressas no mesmo quadro e como uma única cadeia polipeptídica.

[0614] Em outro aspecto, a invenção se relaciona com uma molécula de ácido nucleico isolada codificando um construto de CAR compreendendo uma sequência líder de SEQ ID Nº: 2, um domínio scFv como descrito aqui, uma região de dobradiça de SEQ ID Nº:4 ou SEQ ID Nº:6 ou SEQ ID Nº:8 ou SEQ ID Nº:10 (ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquelas), um domínio de transmembrana tendo uma sequência de SEQ ID Nº: 12 (ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquela), um domínio coestimulador de 4-1BB tendo uma sequência de SEQ ID Nº:14 ou um domínio coestimulador de CD27 tendo uma sequência de SEQ ID Nº:16 (ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquela), e um domínio estimulador de CD3 zeta tendo uma sequência de SEQ ID Nº:18 ou SEQ ID Nº:20 (ou uma sequência com 95-99% de identidade com aquelas).

[0615] Em outro aspecto, a invenção diz respeito a uma molécula de ácido nucleico codificando uma molécula de receptor de antígenos quimérico (CAR) que compreende um domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular compreendendo um domínio estimulador, e em que o referido domínio de ligação a antígenos se liga a um antígeno tumoral selecionado do grupo consistindo em: CD19, CD123, CD22, CD30, CD171, CS-1, CLL-1 (CLECL1), CD33, EGFRvIII, GD2, GD3, BCMA, Tn Ag, PSMA, ROR1, FLT3, FAP, TAG72, CD38, CD44v6, CEA, EPCAM, B7H3, KIT, IL-13Ra2, Mesotelina, IL-11Ra, PSCA, VEGFR2, LewisY, CD24, PDGFR-beta, SSEA-4, CD20, Receptor de folato alfa, ERBB2 (Her2/neu), MUC1, EGFR, NCAM, Prostase, PRSS21, PAP, ELF2M, Efrina B2,

receptor de IGF-I, CAIX, LMP2, gp100, bcr-abl, tirosinase, EphA2, Fucosil GM1, sLe, GM3, TGS5, HMWMAA, o-acetil-GD2, Receptor de folato beta, TEM1/CD248, TEM7R, CLDN6, TSHR, GPRC5D, CXORF61, CD97, CD179a, ALK, Ácido polissiálico, PLAC1, GloboH, NY-BR-1, UPK2, HAVCR1, ADRB3, PANX3, GPR20, LY6K, OR51E2, TARP, WT1, NY-ESO-1, LAGE-1a, MAGE-A1, legumaína, HPV E6,E7, MAGE A1, ETV6-AML, proteína do esperma 17, XAGE1, Tie 2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, antígeno relacionado com Fos 1, p53, p53 mutante, prosteína, survivina e telomerase, PCTA-1/Galectina 8, MelanA/MART1, Ras mutante, hTERT, pontos de quebra de translocação de sarcoma, ML-IAP, ERG (gene de fusão TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, Receptor de andrógenos, Ciclina B1, MYCN, RhoC, TRP-2, CYP1B1, BORIS, SART3, PAX5, OY-TES1, LCK, AKAP-4, SSX2, RAGE-1, transcriptase reversa de telomerase humana, RU1, RU2, carboxil-esterase intestinal, hsp70-2 mut, CD79a, CD79b, CD72, LAIR1, FCAR, LILRA2, CD300LF, CLEC12A, BST2, EMR2, LY75, GPC3, FCRL5 e IGLL1.

[0616] Em uma modalidade, a molécula CAR codificada compreende ainda uma sequência codificando um domínio coestimulador. Em uma modalidade, o domínio coestimulador é um domínio de sinalização funcional de uma proteína selecionada do grupo consistindo em OX40, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18) e 4-1BB (CD137). Em uma modalidade, o domínio coestimulador compreende uma sequência de SEQ ID Nº: 14. Em uma modalidade, o domínio de transmembrana é um domínio de transmembrana de uma proteína selecionada do grupo consistindo na cadeia alfa, beta ou zeta do receptor de células T, CD28, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 e CD154. Em uma modalidade, o domínio de transmembrana compreende uma sequência de SEQ ID Nº:12. Em uma modalidade, o domínio de sinalização intracelular compreende um

domínio de sinalização funcional de 4-1BB e um domínio de sinalização funcional de zeta. Em uma modalidade, o domínio de sinalização intracelular compreende a sequência de SEQ ID Nº: 14 e a sequência de SEQ ID Nº: 18, em que as sequências compreendendo o domínio de sinalização intracelular são expressas no mesmo quadro e como uma única cadeia polipeptídica. Em uma modalidade, o domínio de ligação de anti-antígeno associado a câncer como descrito aqui é conetado ao domínio de transmembrana por uma região de dobradiça. Em uma modalidade, a região de dobradiça compreende SEQ ID Nº:4. Em uma modalidade, a região de dobradiça compreende SEQ ID Nº:6 ou SEQ ID Nº:8 ou SEQ ID Nº:10.

[0617] As sequências de ácido nucleico codificando as moléculas desejadas podem ser obtidas usando métodos recombinantes conhecidos na técnica, tais como, por exemplo, por rastreio de bibliotecas de células expressando o gene, por derivação do gene a partir de um vetor que é conhecido incluir o mesmo, ou por isolamento diretamente a partir de células e tecidos contendo o mesmo, usando técnicas comuns. Alternativamente, o gene de interesse pode ser produzido de modo sintético, em vez de ser clonado.

[0618] A presente invenção também fornece vetores nos quais é inserido um DNA da presente invenção. Vetores derivados de retrovírus tais como o lentivírus são ferramentas adequadas para alcançar transferência de genes de longo prazo, uma vez que permitem integração estável de longo prazo de um transgene e a sua propagação em células descendentes. Os vetores lentivirais têm a vantagem adicional, em relação a vetores derivados de onco-retrovírus tais como vírus de leucemia murina, de poderem transduzir células não proliferativas, tais como hepatócitos. Também têm a vantagem adicional de possuírem baixa imunogenicidade. Um vetor retroviral pode também ser, por exemplo, um vetor gamarretroviral. Um vetor gamarretroviral

pode incluir, por exemplo, um promotor, um sinal de empacotamento (ψ), um local de ligação de iniciador (PBS), uma ou mais (por exemplo, duas) repetições terminais longas (LTR) e um transgene de interesse, por exemplo, um gene codificando um CAR. Um vetor gamarretroviral pode não ter genes estruturas virais como gag, pol e env. Vetores gamarretrovirais exemplificativos incluem Vírus da Leucemia Murina (MLV), Vírus de Formação com Foco no Baço (SFFV) e Vírus do Sarcoma Mieloproliferativo (MPSV) e vetores daí derivados. Outros vetores gamarretrovirais são descritos, por exemplo, em Tobias Maetzig *et al.*, "Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application" *Viruses*. junho de 2011; 3(6): 677-713.

[0619] Em outra modalidade, o vetor compreendendo o ácido nucleico codificando o CAR desejado da invenção é um vetor adenoviral (A5/35). Em outra modalidade, a expressão de ácidos nucleicos codificando CARs pode ser alcançada usando transpósons tais como Bela Adormecida, Crisper, CAS9 e nucleases dedos de zinco. Ver abaixo June *et al.* 2009 *Nature Reviews Immunology* 9.10: 704-716, é incorporado aqui por referência.

[0620] Resumindo brevemente, a expressão de ácidos nucleicos naturais ou sintéticos codificando CARs é tipicamente alcançada por ligação operável de um ácido nucleico codificando o polipeptídeo CAR, ou suas porções, a um promotor, e incorporação do construto em um vetor de expressão. Os vetores podem ser adequados para replicação e integração em eucariotas. Vetores de clonagem típicos contêm terminadores da transcrição e tradução, sequências de iniciação e promotores úteis para regulação da expressão da sequência de ácido nucleico desejada.

[0621] Os construtos de expressão da presente invenção podem também ser usados para imunização de ácido nucleico e terapia genética, usando protocolos-padrão de transferência genética. Métodos

para transferência genética são conhecidos na técnica. Consulte, por exemplo, as Patentes U.S. Nºs 5.399.346, 5.580.859, 5.589.466, incorporadas aqui por referência na sua totalidade. Em outra modalidade, a invenção fornece um vetor de terapia genética.

[0622] O ácido nucleico pode ser clonado em vários tipos de vetores. Por exemplo, o ácido nucleico pode ser clonado em um vetor incluindo, mas não se limitando a, um plasmídeo, fagemídeo, um derivado de fago, um vírus animal e um cosmídeo. Vetores de particular interesse incluem vetores de expressão, vetores de replicação, vetores de geração de sondas e vetores de sequenciamento.

[0623] Além disso, o vetor de expressão pode ser fornecido a uma célula na forma de um vetor viral. A tecnologia de vetores virais é bem conhecida na técnica e é descrita, por exemplo, em Sambrook *et al.*, 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NI), e em outros manuais de virologia e biologia molecular. Vírus que são úteis como vetores incluem, mas não se limitam a, retrovírus, adenovírus, vírus adenoassociados, vírus herpes e lentivírus. Em geral, um vetor adequado contém uma origem da replicação funcional em pelo menos um organismo, uma sequência promotora, sítios de endonucleases de restrição convenientes e um ou mais marcadores selecionáveis (por exemplo, WO 01/96584; WO 01/29058; e Pat. U.S. Nº 6.326.193).

[0624] Um número de sistemas de base viral foi desenvolvido para transferência genética para dentro de células de mamíferos. Por exemplo, retrovírus providenciam uma plataforma conveniente para sistemas de transferência genética. Um gene selecionado pode ser inserido em um vetor e empacotado em partículas retrovirais usando técnicas conhecidas da técnica. O vírus recombinante pode então ser isolado e transferido para células do sujeito *in vivo* ou *ex vivo*. São conhecidos na técnica vários sistemas retrovirais. Em algumas modalidades, são usados vetores de

adenovírus. São conhecidos na técnica vários vetores de adenovírus. Em uma modalidade são usados vetores de lentivírus.

[0625] Elementos promotores adicionais, por exemplo, intensificadores, regulam a frequência de iniciação transcricional. Tipicamente, estes estão localizados na região 30-110 pb a montante do sítio de início, apesar de se ter verificado que vários promotores contêm também elementos funcionais a jusante do sítio de início. O espaçamento entre elementos promotores é frequentemente flexível, de modo que a função promotora seja preservada quando elementos são invertidos ou deslocados em relação uns aos outros. No promotor de timidina quinase (tk), o espaçamento entre elementos promotores pode ser aumentado para 50 pb antes de a atividade começar a declinar. Dependendo do promotor, parece que elementos individuais podem funcionar cooperativa ou independentemente para ativar a transcrição. Promotores exemplificativos incluem promotores do gene IE do CMV, EF-1α, ubiquitina C ou fosfoglicero**quinase** (PGK).

[0626] Um exemplo de um promotor que é capaz de expressar uma molécula de ácido nucleico codificando CAR em uma célula T de mamífero é o promotor de EF1a. O promotor de EF1a nativo conduz a expressão da subunidade alfa do complexo do fator de alongamento-1, que é responsável pela administração enzimática de aminoacil-tRNAs no ribossomo. O promotor de EF1a tem sido extensamente usado em plasmídeos de expressão de mamíferos e foi mostrado que é eficaz na condução da expressão de CAR a partir de moléculas de ácidos nucleicos clonadas em um vetor lentiviral. Ver, por exemplo, Milone *et al., Mol. Ther.* 17(8): 1453-1464 (2009). Em um aspecto, o promotor de EF1a compreende a sequência proporcionada como SEQ ID Nº: 1.

[0627] Outro exemplo de um promotor é a sequência do promotor inicial imediato de citomegalovírus (CMV). Esta sequência promotora é uma sequência promotora constitutiva forte capaz de dirigir níveis

elevados de expressão de qualquer sequência polinucleotídica operavelmente ligada a ela. No entanto, outras sequências de promotores constitutivos também podem ser usadas, incluindo, mas não se limitando ao, promotor inicial do vírus símio 40 (SV40), vírus do tumor mamário de camundongo (MMTV), promotor de repetições terminais longas (LTR) do vírus da imunodeficiência humana (HIV), promotor de MoMuLV, um promotor do vírus da leucemia aviária, um promotor inicial imediato do vírus Epstein-Barr, um promotor do vírus do sarcoma de Rous, bem como promotores de genes humanos tais como, mas não se limitando a, o promotor da actina, o promotor de miosina, o promotor do fator de alongamento-1β, o promotor de hemoglobina e o promotor de creatina quinase. Além disso, a invenção não deve ser limitada ao uso de promotores constitutivos. Promotores induzíveis também são contemplados como parte da invenção. O uso de um promotor induzível proporciona um interruptor molecular capaz de ligar a expressão da sequência polinucleotídica que é operavelmente ligada quando tal expressão é desejada, ou de desligar a expressão quando a expressão não é desejada. Exemplos de promotores induzíveis incluem, mas não se limitam a, um promotor da metalotioneína, um promotor de glucocorticoide, um promotor de progesterona e um promotor de tetraciclina.

[0628] Um vetor também pode incluir, por exemplo, uma sequência sinal para facilitar a secreção, um sinal de poliadenilação e terminador da transcrição (por exemplo, do gene do Hormônio de Crescimento Bovino (BGH)), um elemento permitindo replicação epissômica e replicação em procariotas (por exemplo, origem do SV40 e ColE1 ou outros conhecidos na técnica) e/ou elementos para permitir a seleção (por exemplo, gene de resistência à ampicilina e/ou marcador de zeocina).

[0629] De forma a avaliar a expressão de um polipeptídeo CAR ou

suas porções, o vetor de expressão a ser introduzido em uma célula pode também conter um gene marcador selecionável ou um gene repórter ou ambos, para facilitar identificação e seleção de células de expressão da população de células a serem transfectadas ou infectadas através de vetores virais. Em outros aspectos, o marcador selecionável pode ser transportado em um pedaço separado de DNA e usado em um procedimento de cotransfecção. Tanto os marcadores selecionáveis como os genes repórter podem ser flanqueados com sequências reguladoras apropriadas para permitir expressão nas células hospedeiras. Marcadores selecionáveis úteis incluem, por exemplo, genes de resistência a antibióticos, tais como neo e similares.

[0630] Genes repórter são usados para identificar células potencialmente transfectadas e para avaliar a funcionalidade de sequências reguladoras. Em geral, um gene repórter é um gene que não está presente no nem é expresso pelo organismo ou tecido recebedor e que codifica um polipeptídeo cuja expressão é manifestada por alguma propriedade facilmente detectável, por exemplo, atividade enzimática. A expressão do gene repórter é avaliada em um momento adequado depois de o DNA ter sido introduzido nas células recebedoras. Genes repórter adequados podem incluir genes codificando luciferase, beta-galactosidase, cloranfenicol acetil-transferase, fosfatase alcalina secretada ou o gene da proteína verde fluorescente (por exemplo, Ui-Tei *et al.*, 2000 *FEBS Letters* 479: 79-82). Sistemas de expressão adequados são bem conhecidos e podem ser preparados usando técnicas conhecidas ou obtidos comercialmente. Em geral, o construto com a região flanqueadora 5' mínima exibindo o nível mais elevado de expressão do gene repórter é identificado como o promotor. Tais regiões promotoras podem ser ligadas a um gene repórter e usadas para avaliar agentes quanto à capacidade de modular a transcrição conduzida por promotores.

[0631] Métodos de introdução e expressão de genes em uma célula são conhecidos na técnica. No contexto de um vetor de expressão, o vetor pode ser prontamente introduzido em uma célula hospedeira, por exemplo, célula de mamífero, bacteriana, levedura ou inseto por qualquer método da técnica. Por exemplo, o vetor de expressão pode ser transferido para uma célula hospedeira por meios físicos, químicos ou biológicos.

[0632] Métodos físicos para a introdução de um polinucleotídeo em uma célula hospedeira incluem precipitação com fosfato de cálcio, lipofecção, bombardeamento de partículas, microinjeção, eletroporação e similares. Métodos para produzir células compreendendo vetores e/ou ácidos nucleicos exógenos são bem conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, Sambrook *et al.*, 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NI). Um método preferencial para a introdução de um polinucleotídeo em uma célula hospedeira é transfecção com fosfato de cálcio.

[0633] Métodos biológicos para introduzir um polinucleotídeo de interesse em uma célula hospedeira incluem o uso de vetores de DNA e RNA. Vetores virais, e especialmente vetores retrovirais, se tornaram no método mais amplamente usado para inserir genes em células de mamífero, por exemplo, humanas. Outros vetores virais podem ser derivados de lentivírus, poxvírus, vírus herpes simplex I, adenovírus e vírus adenoassociados e similares. Ver, por exemplo, Patentes U.S. Nºs. 5.350.674 e 5.585.362.

[0634] Meios químicos para introduzir um polinucleotídeo em uma célula hospedeira incluem sistemas de dispersão coloidal, tais como complexos de macromoléculas, nanocápsulas, microesferas, esférulas e sistemas à base de lipídeos incluindo emulsões óleo-em-água, micélios, micélios mistos e lipossomos. Um sistema coloidal exemplificativo para uso como veículo de administração *in vitro* e *in vivo*

é um lipossomo (por exemplo, uma vesícula membranar artificial). Outros métodos de administração dirigida de ácidos nucleicos comuns na técnica estão disponíveis, tais como administração de polinucleotídeos com nanopartículas direcionadas ou outro sistema de administração adequado à escala de submícrones.

[0635] No caso de ser utilizado um sistema de administração não viral, um veículo de administração exemplificativo é um lipossomo. O uso de formulações lipídicas é contemplado para a introdução dos ácidos nucleicos em uma célula hospedeira (*in vitro, ex vivo* ou *in vivo*). Em outro aspecto, o ácido nucleico pode ser associado a um lipídeo. O ácido nucleico associado a um lipídeo pode ser encapsulado no interior aquoso de um lipossomo, intercalado na bicamada lipídica de um lipossomo, ligado a um lipossomo via uma molécula de ligação que está associada ao lipossomo e ao oligonucleotídeo, encerrado em um lipossomo, complexado com um lipossomo, disperso em uma solução contendo um lipídeo, misturado com um lipídeo, combinado com um lipídeo, contido como uma suspensão em um lipídeo, contido ou complexado com um micélio ou associado de qualquer outro modo a um lipídeo. Composições associadas a lipídeos, lipídeo/DNA ou lipídeo/vetor de expressão não se limitam a qualquer estrutura particular em solução. Por exemplo, podem estar presentes em uma estrutura de bicamada, como micélios ou com uma estrutura "colapsada". Também podem ser simplesmente intercaladas em uma solução, possivelmente formando agregados que não são uniformes no tamanho ou forma. Lipídeos são substâncias graxas que podem ser lipídeos de ocorrência natural ou sintéticos. Por exemplo, lipídeos incluem as gotículas graxas que ocorrem naturalmente no citoplasma bem como a classe de compostos que contêm hidrocarbonatos alifáticos de cadeia longa e seus derivados, tais como ácidos graxos, álcoois, aminas, aminoálcoois e aldeídos.

[0636] Lipídeos adequados para uso podem ser obtidos de fontes comerciais. Por exemplo, dimiristil-fosfatidilcolina ("DMPC") pode ser obtida da Sigma, St. Louis, MO; fosfato de dicetila ("DCP") pode ser obtido da K & K Laboratories (Plainview, NI); colesterol ("Choi") pode ser obtido da Calbiochem-Behring; dimiristil-fosfatidilglicerol ("DMPG") e outros lipídeos podem ser obtidos da Avanti Polar Lipids, Inc. (Birmingham, AL.). Soluções de estoque de lipídeos em clorofórmio ou clorofórmio/metanol podem ser armazenadas a cerca de -20 °C. Clorofórmio é usado como o único solvente uma vez que é mais prontamente evaporado do que metanol. "Lipossomo" é um termo genérico abrangendo uma variedade de veículos lipídicos uni- e multilamelares formados pela geração de bicamadas ou agregados lipídicos encerrados. Os lipossomos podem ser caracterizados como tendo estruturas vesiculares com uma membrana de bicamada fosfolipídica e um meio aquoso interno. Lipossomos multilamelares têm múltiplas camadas lipídicas separadas por meio aquoso. Se formam espontaneamente quando fosfolipídeos são suspensos em um excesso de solução aquosa. Os componentes lipídicos sofrem autorrearranjo antes da formação de estruturas fechadas e encerram água e solutos dissolvidos entre as bicamadas lipídicas (Ghosh *et al.*, 1991 *Glycobiology* 5: 505-10). No entanto, composições que têm diferentes estruturas em solução relativamente à estrutura vesicular normal também estão abrangidas. Por exemplo, os lipídeos podem assumir uma estrutura micelar ou existir meramente como agregados não uniformes de moléculas lipídicas. Também são contemplados complexos lipofectamina-ácido nucleico.

[0637] Independentemente do método usado para introduzir ácidos nucleicos exógenos em uma célula hospedeira ou expor de qualquer outro modo uma célula ao inibidor da presente invenção, para confirmar a presença da sequência DNA recombinante na célula hospedeira, uma

variedade de ensaios pode ser realizada. Tais ensaios incluem, por exemplo, ensaios de "biologia molecular" bem conhecidos dos peritos na técnica, tais como transferência Southern e Northern, RT-PCR e PCR; ensaios "bioquímicos", tais como detecção da presença ou ausência de um peptídeo particular, por exemplo, por meios imunológicos (ELISAs e transferências Western) ou por ensaios descritos aqui para identificar agentes que caem no escopo da invenção.

[0638] A presente invenção proporciona ainda um vetor compreendendo uma molécula de ácido nucleico codificando CAR. Em um aspecto, um vetor CAR pode ser diretamente transduzido para dentro de uma célula, por exemplo, uma célula T ou uma célula NK. Em um aspecto, o vetor é um vetor de clonagem ou expressão, por exemplo, um vetor incluindo, mas não se limitando a, um ou mais plasmídeos (por exemplo, plasmídeos de expressão, vetores de clonagem, minicírculos, minivetores, cromossomos *double minute*), construtos de vetores retrovirais e lentivirais. Em um aspecto, o vetor é capaz de expressar o construto de CAR em células efetoras imunes de mamífero (por exemplo, células T, células NK). Em um aspecto, a célula T de mamífero é uma célula T humana. Em um aspeto, a célula NK de mamífero é uma célula NK humana.

Fontes de Células

[0639] Antes da expansão e modificação genética ou outra modificação, uma fonte de células, por exemplo, células T ou células exterminadoras naturais (NK), pode ser obtida a partir de um sujeito. É pretendido que o termo "sujeito" inclua organismos vivos nos quais pode ser induzida uma resposta imune (por exemplo, mamíferos). Exemplos de sujeitos incluem seres humanos, macacos, chimpanzés, cães, gatos, camundongos, ratos e suas espécies transgênicas. Células T podem ser obtidas de algumas fontes, incluindo células mononucleares do

sangue periférico, medula óssea, tecido de gânglios linfáticos, sangue do cordão umbilical, tecido do timo, tecido de um sítio de infecção, ascites, efusão pleural, tecido do baço e tumores.

[0640] Em certos aspectos da presente revelação, células efetoras imunes, por exemplo, células T, podem ser obtidas de uma unidade de sangue recolhido de um sujeito usando quaisquer técnicas conhecidas do perito, tais como separação com Ficoll™. Em um aspecto preferencial, células do sangue em circulação de um indivíduo são obtidas por aférese. O produto da aférese contém tipicamente linfócitos, incluindo células T, monócitos, granulócitos, células B, outros leucócitos nucleados, eritrócitos e plaquetas. Em um aspecto, as células recolhidas por aférese podem ser lavadas para remover a fração do plasma e, opcionalmente, para colocar as células em um tampão ou meio apropriado para passos de processamento subsequentes. Em uma modalidade, as células são lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS). Em uma modalidade alternativa, a solução de lavagem está desprovida de cálcio e pode estar desprovida de magnésio ou pode estar desprovida de muitos se não de todos os cátions divalentes.

[0641] Passos de ativação inicial na ausência de cálcio podem conduzir a ativação amplificada. Como será prontamente apreciado pelos peritos na técnica, um passo de lavagem pode ser efetuado por métodos conhecidos dos peritos na técnica, tais como por uso de um centrifugador de "fluxo contínuo" semiautomatizado (por exemplo, o processador de células Cobe 2991, o Baxter CytoMate ou o Haemonetics Cell Saver 5) de acordo com as instruções do fabricante. Após a lavagem, as células podem ser ressuspensas em uma variedade de tampões biocompatíveis, tais como, por exemplo, PBS sem Ca, sem Mg, PlasmaLyte A, ou outra solução salina com ou sem tampão. Alternativamente, os componentes indesejáveis da amostra da aférese

podem ser removidos e as células podem ser diretamente ressuspensas em meio de cultura.

[0642] É reconhecido que os métodos do pedido podem empregar condições de meio de cultura compreendendo 5% ou menos, por exemplo, 2%, de soro AB humano, e empregar condições e composições do meio de cultura conhecidas, por exemplo, as descritas em Smith *et al.*, "Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement" *Clinical & Translational Immunology* (2015) 4, e31; doi:10.1038/cti.2014.31.

[0643] Em um aspecto, as células T são isoladas de linfócitos de sangue periférico por lise de glóbulos vermelhos e esgotando os monócitos, por exemplo, por centrifugação através de um gradiente PERCOLL™ ou por elutriação centrífuga de contrafluxo.

[0644] Os métodos descritos aqui podem incluir, por exemplo, seleção de uma subpopulação específica de células efetoras imunes, por exemplo, células T, que são uma população depletada de células T reguladoras, células depletadas de CD25+, usando, por exemplo, uma técnica de seleção negativa, por exemplo, descrita aqui. Preferencialmente, a população de células depletadas de T reguladoras contém menos de 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% de células CD25+.

[0645] Em uma modalidade, células T reguladoras, por exemplo, células T CD25+, são removidas da população usando um anticorpo anti-CD25 ou seu fragmento, ou um ligante de ligação a CD25, IL-2. Em uma modalidade, o anticorpo anti-CD25 ou seu fragmento, ou ligante de ligação a CD25 é conjugado a um substrato, por exemplo, uma esférula, ou é revestido de outro modo sobre um substrato, por exemplo, uma esférula. Em uma modalidade, o anticorpo anti-CD25 ou seu fragmento é conjugado a um substrato como descrito aqui.

[0646] Em uma modalidade, as células T reguladoras, por exemplo, células T CD25+, são removidas da população usando reagente de depleção de CD25 da Miltenyi™. Em uma modalidade, a proporção de células para reagente de depleção de CD25 é de 1e7 células para 20 uL, ou 1e7 células para 15 uL, ou 1e7 células para 10 uL, ou 1e7 células para 5 uL, ou 1e7 células para 2,5 uL, ou 1e7 células para 1,25 uL. Em uma modalidade, por exemplo, para células reguladoras T, é usada, por exemplo, depleção de CD25+ superior a 500 milhões de células/mL. Em um aspecto adicional, é usada uma concentração de células de 600, 700, 800 ou 900 milhões de células/mL.

[0647] Em uma modalidade, a população de células efetoras imunes a ser esgotada inclui cerca de 6 x 10^9 células T CD25+. Em outros aspectos, a população de células efetoras imunes a ser esgotada inclui cerca de 1 x 10^9 a 1 x 10^{10} células T CD25+ e qualquer valor inteiro intermédio. Em uma modalidade, a população resultante de células reguladoras T depletadas tem 2 x 10^9 células reguladoras T, por exemplo, células CD25+, ou menos (por exemplo, 1 x 10^9, 5 x 10^8, 1 x 10^8, 5 x 10^7, 1 x 10^7 ou menos células CD25+).

[0648] Em uma modalidade, as células reguladoras T, por exemplo, células CD25+, são removidas da população usando o sistema CliniMAC com um conjunto de tubulação de depleção, como, por exemplo, tubulação 162-01. Em uma modalidade, o sistema CliniMAC é executado em uma definição de depleção como, por exemplo, DEPLETION2.1.

[0649] Sem querer estar limitado por uma teoria particular, diminuir o nível de reguladores negativos de células imunes (por exemplo, diminuir o número de células imunes indesejadas, por exemplo, células T_{REG}) em um sujeito antes de aférese ou durante fabrico de um produto de célula expressando CAR pode reduzir o risco de recaída em um sujeito. Por exemplo, métodos de esgotar células T_{REG} são conhecidos

na técnica. Métodos de reduzir células T_{REG} incluem, mas não se limitam a, ciclofosfamida, anticorpo anti-GITR (um anticorpo anti-GITR aqui descrito), depleção de CD25 e suas combinações.

[0650] Em algumas modalidades, os métodos de fabrico compreendem reduzir o número (por exemplo, por depleção) de células T_{REG} antes do fabrico da célula expressando CAR. Por exemplo, métodos de fabrico compreendem contatar a amostra, por exemplo, a amostra de aférese, com um anticorpo anti-GITR e/ou um anticorpo anti-CD25 (ou seu fragmento, ou um ligando de ligação de CD25), por exemplo, para esgotar células T_{REG} antes do fabrico do produto de célula expressando CAR (por exemplo, célula T, célula NK).

[0651] Em uma modalidade, um sujeito é pré-tratado com uma ou mais terapias que reduzem células T_{REG} antes da recolha de células para fabrico de produto de célula expressando CAR, reduzindo assim o risco de recaída do sujeito no tratamento com células expressando CAR. Em uma modalidade, métodos de reduzir células T_{REG} incluem, mas não se limitam a, administração ao sujeito de um ou mais de ciclofosfamida, anticorpo anti-GITR, depleção de CD25 ou uma sua combinação. Administração de um ou mais de ciclofosfamida, anticorpo anti-GITR, depleção de CD25 ou uma sua combinação, pode ocorrer antes, durante ou após uma infusão do produto de célula expressando CAR.

[0652] Em uma modalidade, um sujeito é pré-tratado com ciclofosfamida antes da recolha de células para fabrico de produto de célula expressando CAR, reduzindo assim o risco de recaída do sujeito no tratamento com células expressando CAR. Em uma modalidade, um sujeito é pré-tratado com anticorpo anti-GITR antes da recolha de células para fabrico de produto de célula expressando CAR, reduzindo assim o risco de recaída do sujeito no tratamento com células expressando CAR.

[0653] Em uma modalidade, a população de células a ser removida não consiste nas células T reguladoras nem células tumorais, mas células que afetam negativamente de qualquer outro modo a expansão e/ou função de células CART, por exemplo, células expressando CD14, CD11b, CD33, CD15 ou outros marcadores expressos por células potencialmente imunossupressoras. Em uma modalidade, é contemplado que tais células são removidas concorrentemente com células T reguladoras e/ou células tumorais, ou após a referida depleção, ou em outra ordem.

[0654] Os métodos descritos aqui podem incluir mais do que um passo de seleção, por exemplo, mais do que um passo de depleção. O enriquecimento de uma população de células T por seleção negativa pode ser alcançado, por exemplo, com uma combinação de anticorpos dirigidos para marcadores de superfície únicos às células negativamente selecionadas. Um método consiste em triagem e/ou seleção de células via imunoaderência magnética negativa ou citometria de fluxo que usa um coquetel de anticorpos monoclonais dirigidos para marcadores da superfície celular presentes nas células negativamente selecionadas. Por exemplo, para enriquecimento quanto a células CD4+ por seleção negativa, um coquetel de anticorpos monoclonais pode incluir anticorpos para CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR e CD8.

[0655] Os métodos descritos aqui podem adicionalmente incluir remover células da população que expressam um antígeno tumoral, por exemplo, um antígeno tumoral que não compreende CD25, por exemplo, CD19, CD30, CD38, CD123, CD20, CD14 ou CD11b, para assim proporcionar uma população depletada de T reguladoras, por exemplo, depletada de CD25+, e células depletadas de antígenos tumorais que são adequadas para expressão de um CAR, por exemplo, um CAR descrito aqui. Em uma modalidade, células expressando antígenos tumorais são removidas simultaneamente com as células T

reguladoras, por exemplo, CD25+. Por exemplo, um anticorpo anti-CD25 ou seu fragmento, e um anticorpo anti-antígeno tumoral ou seu fragmento, podem ser ligados ao mesmo substrato, por exemplo, esférula, que pode ser usado para remover as células ou um anticorpo anti-CD25 ou seu fragmento, ou o anticorpo anti-antígeno tumoral ou seu fragmento, pode ser ligado a esférulas separadas, uma mistura das quais pode ser usada para remover as células. Em outras modalidades, a remoção de células T reguladoras, por exemplo, células CD25+, e a remoção das células expressando antígeno tumoral são sequenciais, e podem ocorrer, por exemplo, em qualquer ordem.

[0656] Também são fornecidos métodos que incluem remover células da população que expressam um inibidor de ponto de verificação, por exemplo, um inibidor de ponto de verificação aqui descrito, por exemplo, uma ou mais de células PD1+, células LAG3+ e células TIM3+, para assim fornecer uma população de células reguladoras T depletadas, por exemplo, células depletadas quanto a CD25+, e células depletadas de inibidor de ponto de verificação, por exemplo, células depletadas de PD1+, LAG3+ e/ou TIM3+. Inibidores de pontos de verificação exemplificativos incluem B7-H1, B7-1, CD160, P1H, 2B4, PD1, TIM3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG3, TIGIT, CTLA-4, BTLA e LAIR1. Em uma modalidade, células expressando inibidor de pontos de verificação são removidas simultaneamente com as células T reguladoras, por exemplo, CD25+. Por exemplo, um anticorpo anti-CD25 ou seu fragmento, e um anticorpo anti-inibidor de pontos de verificação ou seu fragmento, pode ser ligado à mesma esférula que pode ser usada para remover as células, ou um anticorpo anti-CD25 ou seu fragmento, e o anticorpo anti-inibidor de pontos de verificação ou seu fragmento, podem ser ligados a esférulas separadas, uma mistura das quais pode ser usada para remover as células. Em outras modalidades, a remoção

de células T reguladoras, por exemplo, células CD25+, e a remoção das células expressando inibidor de pontos de verificação são sequenciais, e podem ocorrer, por exemplo, em qualquer ordem.

[0657] Os métodos descritos no presente documento podem incluir uma etapa de seleção positiva. Por exemplo, células T podem ser isoladas por incubação com esférulas conjugadas a anti-CD3/anti-CD28 (por exemplo, 3x28), tais como T CD3/CD28 DYNABEADS® M-450, durante um período de tempo suficiente para a seleção positiva das células T desejadas. Em uma modalidade, o período de tempo é cerca de 30 minutos. Em uma modalidade adicional, o período de tempo varia desde 30 minutos até 36 horas ou mais e todos os valores inteiros entre aqueles. Em uma modalidade adicional, o período de tempo é pelo menos 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 horas. Ainda em outra modalidade, o período de tempo é 10 até 24 horas, por exemplo, 24 horas. Tempos de incubação mais longos podem ser usados para isolar células T em qualquer situação em que haja poucas células T em comparação com outros tipos de células, tais como no isolamento de linfócitos infiltrantes em tumores (TIL) de tecido tumoral ou de indivíduos imunocomprometidos. Além disso, o uso de tempos de incubação mais longos pode aumentar a eficiência da captura de células T CD8+. Assim, simplesmente encurtando ou prolongando o tempo em que células T são deixadas se ligar às esférulas CD3/CD28 e/ou aumentando ou decrescendo a razão entre esférulas e células T (como adicionalmente descrito aqui), subpopulações de células T podem ser preferencialmente selecionadas positiva ou negativamente na iniciação da cultura ou em outros momentos durante o processo. Adicionalmente, aumentando ou decrescendo a razão de anticorpos anti-CD3 e/ou anti-CD28 nas esférulas ou outra superfície, subpopulações de células T podem ser preferencialmente selecionadas positiva ou negativamente na iniciação da cultura ou em outros momentos desejados.

[0658] Em uma modalidade, pode ser selecionada uma população de células T que expressa um ou mais de IFN-γ, TNFα, IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, granzima B e perforina, ou outras moléculas apropriadas, por exemplo, outras citocinas. Métodos de rastreio da expressão de células podem ser determinados, por exemplo, pelos métodos descritos na Publicação PCT No.: WO 2013/126712.

[0659] Para isolamento de uma população desejada de células por seleção positiva ou negativa, a concentração de células e superfície (por exemplo, partículas, tais como esférulas) podem ser variadas. Em certos aspectos, pode ser desejável diminuir significativamente o volume no qual esférulas e células são misturadas em conjunto (por exemplo, aumentar a concentração de células), para assegurar contato máximo de células e esférulas. Por exemplo, em um aspecto, é usada uma concentração de 10 bilhões de células/mL, 9 bilhões/mL, 8 bilhões/mL, 7 bilhões/mL, 6 bilhões/mL ou 5 bilhões/mL. Em um aspecto, uma concentração de 1 bilhão de células/mL é usada. Ainda em um aspecto, uma concentração de células desde 75, 80, 85, 90, 95 ou 100 milhões de células/mL é usada. Em aspectos adicionais, concentrações de 125 ou 150 milhões de células/mL podem ser usadas.

[0660] O uso de concentrações elevadas pode resultar em rendimento de células, ativação de células e expansão de células aumentados. Além disso, o uso de elevadas concentrações de células permite uma captura mais eficiente de células que podem expressar fracamente antígenos-alvo de interesse, tais como células T negativas para CD28, ou de amostras onde estão presentes muitas células tumorais (por exemplo, sangue leucêmico, tecido tumoral, etc.). Tais populações de células podem ter valor terapêutico e será desejável obter as mesmas. Por exemplo, o uso de uma concentração elevada de células permite uma seleção mais eficiente de células T CD8+ que

normalmente têm expressão mais fraca de CD28.

[0661] Em um aspecto relacionado, pode ser desejável usar concentrações menores de células. Ao diluir significativamente a mistura de células T e superfície (por exemplo, partículas tais como esférulas), interações entre as partículas e células são minimizadas. Tal seleciona células que expressam quantidades elevadas de antígenos desejados a serem ligados às partículas. Por exemplo, células T CD4+ expressam níveis mais elevados de CD28 e são mais eficientemente capturadas do que células T CD8+ em concentrações diluídas. Em um aspecto, a concentração de células usada é 5 x 10^6/mL. Em outros aspectos, a concentração usada pode ir desde cerca de 1 x 10^5/mL até 1 x 10^6/mL, e qualquer valor inteiro entre aqueles.

[0662] Em outros aspectos, as células podem ser incubadas em um rotador durante extensões de tempo variáveis a velocidades variáveis a 2-10°C ou à temperatura ambiente.

[0663] Células T para estimulação também podem ser congeladas após um passo de lavagem. Sem pretender ficar restringido pela teoria, o passo de congelação e descongelação subsequente proporciona um produto mais uniforme por remoção de granulócitos e, em alguma extensão, monócitos da população de células. Após o passo de lavagem, que remove plasma e plaquetas, as células podem ser suspensas em uma solução de congelação. Não obstante muitas soluções e parâmetros de congelação serem conhecidos na técnica e serem úteis neste contexto, um método envolve usar PBS contendo DMSO 20% e albumina do soro humano 8%, ou meio de cultura contendo Dextrano 40 10% e Dextrose 5%, Albumina de Soro Humano 20% e DMSO 7,5% ou Plasmalyte-A 31,25%, Dextrose 5% 31,25%, NaCl 0,45%, Dextrano 40 10% e Dextrose 5%, Albumina do Soro Humano 20% e DMSO 7,5% ou outro meio de congelação de células adequado contendo, por exemplo, Hespan e PlasmaLyte A, as células

são então congeladas para -80°C a uma velocidade de 1° por minuto e armazenadas na fase de vapor de um tanque de armazenagem de nitrogênio líquido. Outros métodos de congelação controlada podem ser usados, bem como congelação descontrolada imediatamente a -20°C ou em nitrogênio líquido.

[0664] Em certos aspectos, células crioconservadas são descongeladas e lavadas como descrito aqui e deixadas repousar durante uma hora à temperatura ambiente antes da ativação usando os métodos da presente invenção.

[0665] Também é contemplada, no contexto da invenção, a recolha de amostras de sangue ou produto de aférese de um sujeito em um período de tempo antes de poderem ser necessárias as células expandidas como descrito aqui. Como tal, a fonte das células a serem expandidas pode ser recolhida em qualquer instante necessário, e células desejadas, tais como células T, podem ser isoladas e congeladas para uso posterior em terapia com células efetoras imunes para quaisquer doenças ou afecções que beneficiem da terapia com células efetoras imunes, tais como as descritas aqui. Em um aspecto, uma amostra de sangue ou uma aférese é recolhida de um sujeito geralmente saudável. Em certos aspectos, uma amostra de sangue ou uma aférese é recolhida de um sujeito geralmente saudável que está em risco de desenvolver uma doença, mas que ainda não desenvolveu uma doença, e as células de interesse são isoladas e congeladas para uso posterior. Em certos aspectos, as células T podem ser expandidas, congeladas, e usadas em um instante posterior. Em certos aspectos, amostras são recolhidas de um paciente pouco tempo após o diagnóstico de uma doença particular como descrito aqui, mas antes de quaisquer tratamentos. Em um aspecto adicional, as células são isoladas de uma amostra de sangue ou uma aférese de um sujeito antes de quaisquer modalidades de tratamento relevantes, incluindo, mas não

se limitando a, tratamento com agentes tais como natalizumab, efalizumab, agentes antivirais, quimioterapia, radiação, agentes imunossupressores, tais como ciclosporina, azatioprina, metotrexato, micofenolato, e FK506, anticorpos ou outros agentes de imunoablação tais como CAMPATH, anticorpos anti-CD3, citoxano, fludarabina, ciclosporina, FK506, rapamicina, ácido micofenólico, esteroides, FR901228 e irradiação.

[0666] Em um aspecto adicional da presente invenção, células T são obtidas de um paciente diretamente após tratamento que deixa o sujeito com células T funcionais. A este respeito, foi observado que, após certos tratamentos para câncer, em particular tratamentos com fármacos que danificam o sistema imune, pouco tempo após o tratamento e durante o período no qual pacientes estão normalmente recuperando do tratamento, a qualidade de células T obtidas pode ser ótima ou melhorada quanto à sua capacidade de expansão *ex vivo*. De igual modo, após manipulação *ex vivo* usando os métodos descritos aqui, estas células podem estar em um estado preferencial para enxertia e expansão *in vivo* intensificadas. Assim, é contemplado, no contexto da presente invenção, recolher células sanguíneas, incluindo células T, células dendríticas, ou outras células da linhagem hematopoiética, durante esta fase de recuperação. Além disso, em certos aspectos, regimes de mobilização (por exemplo, mobilização com GM-CSF) e condicionamento podem ser usados para criar uma condição em um sujeito em que repopulação, recirculação, regeneração e/ou expansão de tipos de células particulares são favorecidos, especialmente durante uma janela de tempo definida após terapia. Tipos de células ilustrativos incluem células T, células B, células dendríticas e outras células do sistema imune.

[0667] Em uma modalidade, as células imunoefetoras que expressam uma molécula CAR, por exemplo, uma molécula CAR

descrita no presente documento, são obtidas a partir de um sujeito que recebeu uma dose baixa intensificadora de imunidade de um inibidor de mTOR. Em uma modalidade, a população de células imunoefetoras, por exemplo, células T, a ser manipulada para expressar um CAR, é coletada após um tempo suficiente ou após dosagem suficiente de baixa dose de intensificação imune de um inibidor de mTOR, de modo que o nível de células efetoras imunes negativas para PD1, por exemplo, células T, ou a razão de células efetoras imunes negativas para PD1, por exemplo, células T/células efetoras imunes positivas para PD1, por exemplo, células T, no sujeito ou coletadas do sujeito foi, pelo menos temporariamente, aumentada.

[0668] Em outras modalidades, a população de células efetoras imunes, por exemplo, células T, que foi ou será manipulada para expressar um CAR, pode ser tratada *ex vivo* por contato com uma quantidade de um inibidor de mTOR que aumenta o número de células efetoras imunes negativas para PD1, por exemplo, células T, ou aumenta a razão de células efetoras imunes negativas para PD1, por exemplo, células T/células efetoras imunes positivas para PD1, por exemplo, células T.

[0669] Em uma modalidade, uma população de células T é deficiente em diaglicerol quinase (DGK). Células deficientes em DGK incluem células que não expressam RNA ou proteína de DGK, ou têm atividade de DGK reduzida ou inibida. Células deficientes em DGK podem ser geradas por abordagens genéticas, por exemplo, administração de agentes de interferência de RNA, por exemplo, siRNA, shRNA, miRNA, para reduzir ou prevenir a expressão de DGK. Alternativamente, células deficientes em DGK podem ser geradas por tratamento com inibidores de DGK descritos aqui.

[0670] Em uma modalidade, uma população de células T é deficiente em Ikaros. Células deficientes em Ikaros incluem células que

não expressam RNA ou proteína de Ikaros, ou têm atividade de Ikaros reduzida ou inibida, células deficientes em Ikaros podem ser geradas por abordagens genéticas, por exemplo, administração de agentes de interferência de RNA, por exemplo, siRNA, shRNA, miRNA, para reduzir ou prevenir a expressão de Ikaros. Alternativamente, células deficientes em Ikaros podem ser geradas por tratamento com inibidores de Ikaros, por exemplo, lenalidomida.

[0671] Em modalidades, uma população de células T é deficiente em DGK e deficiente em Ikaros, por exemplo, não expressa DGK nem Ikaros, ou tem atividade de DGK e Ikaros reduzida ou inibida. Tais células deficientes em DGK e Ikaros podem ser geradas por quaisquer dos métodos descritos aqui.

[0672] Em uma modalidade, as células NK são obtidas do sujeito. Em outra modalidade, as células NK são uma linhagem de células NK, por exemplo, linhagem de células NK-92 (Conkwest).

CAR Alogeneico

[0673] Em modalidades descritas aqui, a célula efetora imune pode ser uma célula efetora imune alogeneica, por exemplo, célula T ou célula NK. Por exemplo, a célula pode ser uma célula T alogeneica, por exemplo, uma célula T alogeneica desprovida de expressão de um receptor de células T (TCR) e/ou antígeno leucocitário humano (HLA) funcionais, por exemplo, HLA de classe I e/ou HLA de classe II.

[0674] Uma célula T desprovida de um TCR funcional pode ser manipulada, por exemplo, de modo que não expressa nenhum TCR funcional na sua superfície, manipulada de modo que não expressa uma ou mais subunidades que compreendem um TCR funcional ou manipulada de modo que produz muito pouco TCR funcional na sua superfície. Alternativamente, a célula T pode expressar um TCR substancialmente enfraquecido, por exemplo, por expressão de formas mutadas ou truncadas de uma ou mais das subunidades do TCR. O

termo "TCR substancialmente enfraquecido" significa que este TCR não irá induzir uma reação imune adversa em um hospedeiro.

[0675] Uma célula T descrita aqui pode ser manipulada, por exemplo, de modo que não expressa um HLA funcional na sua superfície. Por exemplo, uma célula T descrita aqui pode ser manipulada de modo que o HLA de expressão na superfície celular, por exemplo, HLA de classe I e/ou HLA de classe II, é subregulado.

[0676] Em algumas modalidades, a célula T pode estar desprovida de um TCR funcional e um HLA funcional, por exemplo, HLA de classe I e/ou HLA de classe II.

[0677] Células T modificadas desprovidas de expressão de um TCR e/ou HLA funcionais podem ser obtidas por quaisquer meios adequados, incluindo um nocaute ou silenciamento de uma ou mais subunidades do TCR ou HLA. Por exemplo, a célula T pode incluir um silenciamento de TCR e/ou HLA usando siRNA, shRNA, repetições palindrômicas curtas agrupadas regularmente intervaladas (CRISPR), nuclease efetora do tipo ativador da transcrição (TALEN), ou endonuclease dedos de zinco (ZFN).

[0678] Em algumas modalidades, a célula alogeneica pode ser uma célula que não expressa ou expressa em níveis baixos uma molécula inibidora, por exemplo, por qualquer método descrito aqui. Por exemplo, a célula pode ser uma célula que não expressa ou expressa em níveis baixos uma molécula inibidora, por exemplo, que pode decrescer a capacidade de uma célula expressando CAR para montar uma resposta efetora imune. Os exemplos de moléculas inibidoras incluem PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 e TGF beta. A inibição de uma molécula inibidora, por exemplo, por inibição ao nível do DNA, RNA ou proteína, pode otimizar o desempenho de uma célula expressando CAR. Em modalidades, pode

ser usado um ácido nucleico inibidor, por exemplo, um ácido nucleico inibidor, por exemplo, um dsRNA, por exemplo, um siRNA ou shRNA, repetições palindrômicas curtas agrupadas regularmente intervaladas (CRISPR), uma nuclease efetora do tipo ativador da transcrição (TALEN), ou uma endonuclease dedos de zinco (ZFN), por exemplo, como descrito aqui.

siRNA e shRNA para inibir TCR ou HLA

[0679] Em algumas modalidades, a expressão de TCR e/ou expressão de HLA podem ser inibidas usando siRNA ou shRNA que visa um ácido nucleico codificando um TCR e/ou HLA em uma célula T.

[0680] A expressão de siRNA e shRNAs em células T pode ser alcançada com o uso de qualquer sistema de expressão convencional, por exemplo, tal como um sistema de expressão lentiviral.

[0681] Os shRNAs exemplificativos que regulam decrescentemente a expressão de componentes do TCR são descritos, por exemplo, na Publicação Nº US: 2012/0321667. O siRNA e shRNA exemplificativos que regulam decrescentemente a expressão de genes HLA de classe I e/ou HLA de classe II são descritos, por exemplo, na publicação Nº U.S.: US 2007/0036773.

CRISPR para inibir TCR ou HLA

[0682] "CRISPR" ou "CRISPR para TCR e/ou HLA" ou "CRISPR para inibir TCR e/ou HLA", como usado aqui, se refere a um conjunto de repetições palindrômicas curtas agrupadas regularmente intervaladas, ou um sistema compreendendo tal conjunto de repetições. "Cas", como usado aqui, se refere a uma proteína associada à CRISPR. Um sistema "CRISPR/Cas" se refere a um sistema derivado de CRISPR e Cas que pode ser usado para silenciar ou mutar um gene TCR e/ou HLA.

[0683] Os sistemas CRISPR/Cas de ocorrência natural são encontrados em aproximadamente 40% dos genomas de eubactérias

sequenciados e 90% das *Archaea* sequenciadas. Grissa *et al.* (2007) *BMC Bioinformatics* 8: 172. Este sistema é um tipo de sistema imune procariótico que confere resistência a elementos genéticos estranhos, tais como plasmídeos e fagos, e proporciona uma forma de imunidade adquirida. Barrangou *et al.* (2007) *Science* 315: 1709-1712; Marragini *et al.* (2008) *Science* 322: 1843-1845.

[0684] O sistema CRISPR/Cas foi modificado para uso na edição de genes (silenciamento, intensificação ou alteração de genes específicos) em eucariotas, tais como camundongos ou primatas. Wiedenheft *et al.* (2012) *Nature* 482: 331-8. Tal é alcançado introduzindo na célula eucariótica um plasmídeo contendo um CRISPR especificamente projetado e um ou mais Cas apropriados.

[0685] A sequência CRISPR, algumas vezes chamada de lócus CRISPR, compreende repetições e espaçadores alternados. Em uma CRISPR de ocorrência natural, os espaçadores compreendem usualmente sequências estranhas à bactéria, tais como uma sequência de plasmídeo ou fago; no sistema CRISPR/Cas para TCR e/ou HLA, os espaçadores são derivados da sequência do gene TCR ou HLA.

[0686] RNA do lócus CRISPR é constitutivamente expresso e processado por proteínas Cas em pequenos RNAs. Os mesmos compreendem um espaçador flanqueado por uma sequência de repetição. Os RNAs guiam outras proteínas Cas para silenciar elementos genéticos exógenos ao nível do RNA ou DNA. Horvath *et al.* (2010) *Science* 327: 167-170; Makarova *et al.* (2006) *Biology Direct* 1: 7. Assim, os espaçadores servem de modelos para moléculas de RNA, analogamente a siRNAs. Pennisi (2013) *Science* 341: 833-836.

[0687] À medida queos mesmos ocorrem naturalmente em muitos tipos diferentes de bactérias, as disposições exatas do CRISPR e estrutura, função e número de genes Cas e seu produto diferem de algum modo de espécie para espécie. Haft *et al.* (2005) *PLoS Comput.*

Biol. 1: e60; Kunin *et al.* (2007) *Genome Biol.* 8: R61; Mojica *et al.* (2005) *J. Mol. Evol.* 60: 174-182; Bolotin *et al.* (2005) *Microbiol.* 151: 2551-2561; Pourcel *et al.* (2005) *Microbiol.* 151: 653-663; e Stern *et al.* (2010) *Trends. Genet.* 28: 335-340. Por exemplo, as proteínas Cse (subtipo Cas, *E. coli*) (por exemplo, CasA) formam um complexo funcional, Cascata, que processa transcritos de RNA de CRISPR em unidades espaçador-repetição de que a Cascata retém. Brouns *et al.* (2008) *Science* 321: 960-964. Em outros procariotas, Cas6 processa o transcrito de CRISPR. A inativação fágica baseada em CRISPR em *E. coli* exige Cascata e Cas3, mas não Cas1 ou Cas2. As proteínas Cmr (módulo Cas RAMP) em *Pyrococcus furiosus* e outros procariotas formam um complexo funcional com pequenos RNAs de CRISPR que reconhece e cliva RNAs-alvo complementares. Um sistema CRISPR mais simples depende da proteína Cas9, que é uma nuclease com dois sítios de corte ativos, um para cada fita da hélice dupla. Combinando Cas9 e lócus de CRISPR modificado, o RNA pode ser usado em um sistema para edição de genes. Pennisi (2013) *Science* 341: 833-836.

[0688] Assim, o sistema CRISPR/Cas pode ser usado para editar um gene TCR e/ou HLA (adicionando ou deletando um par de bases) ou introduzir uma terminação prematura que, assim, decresce a expressão de um TCR e/ou HLA. O sistema CRISPR/Cas pode ser alternativamente usado como interferência de RNA, desativando o gene TCR e/ou HLA de uma maneira reversível. Em uma célula de mamífero, por exemplo, o RNA pode guiar a proteína Cas para um promotor de TCR e/ou HLA, bloqueando estericamente RNA polimerases.

[0689] Podem ser gerados sistemas CRISPR/Cas artificiais que inibem TCR e/ou HLA, usando tecnologia conhecida na técnica, por exemplo, a descrita na Publicação U.S. Nº. 20140068797, e Cong (2013) *Science* 339: 819-823. Também podem ser gerados outros sistemas CRISPR/Cas artificiais, que são conhecidos na técnica, que

inibem TCR e/ou HLA, por exemplo, o descrito em Tsai (2014) *Nature Biotechnol.*, 32:6 569-576, Patente U.S. Nº.: 8.871.445; 8.865.406; 8.795.965; 8.771.945; e 8.697.359.

TALEN para inibir TCR e/ou HLA

[0690] "TALEN" ou "TALEN para HLA e/ou TCR" ou "TALEN para inibir HLA e/ou TCR" refere-se a uma nuclease efetora do tipo ativador da transcrição, uma nuclease artificial que pode ser usada para editar o gene HLA e/ou TCR.

[0691] TALENs são produzidas artificialmente fundindo um domínio de ligação de DNA efetor TAL a um domínio de clivagem de DNA. Efeitos do tipo ativador da transcrição (TALEs) podem ser modificados para se ligarem a qualquer sequência de DNA desejada, incluindo uma porção do gene HLA ou TCR. Combinando um TALE modificado com um domínio de clivagem de DNA, uma enzima de restrição pode ser produzida que é específica para qualquer sequência de DNA desejada, incluindo uma sequência de HLA ou TCR. Estas podem, então, ser introduzidas em uma célula onde podem ser usadas para edição de genoma. Boch (2011) *Nature Biotech.* 29: 135-6; e Boch *et al.* (2009) *Science* 326: 1509-12; Moscou *et al.* (2009) *Science* 326: 3501.

[0692] TALEs são proteínas secretadas por bactérias *Xanthomonas*. O domínio de ligação de DNA contém uma sequência de 33-34 aminoácidos altamente conservada repetida, com a exceção do 12º e 13º aminoácidos. Essas duas posições são altamente variáveis, mostrando uma correlação forte com reconhecimento de nucleotídeos específico. Estas podem ser, assim, manipuladas para se ligarem a uma sequência de DNA desejada.

[0693] Para produzir uma TALEN, uma proteína TALE é fundida a uma nuclease (N), que é uma endonuclease FokI do tipo selvagem ou com mutação. Diversas mutações a FokI foram realizadas para seu uso em TALENs; essas, por exemplo, aprimoram a especificidade ou

a atividade de clivagem. Cermak *et al.* (2011) *Nucl. Acids Res.* 39: e82; Miller *et al.* (2011) *Nature Biotech.* 29: 143-8; Hockemeyer *et al.* (2011) *Nature Biotech.* 29: 731-734; Wood *et al.* (2011) *Science* 333: 307; Doyon *et al.* (2010) *Nature Methods* 8: 74-79; Szczepek *et al.* (2007) *Nature Biotech.* 25: 786-793; e Guo *et al.* (2010) *J. Mol. Biol.* 200: 96.

[0694] O domínio FokI funciona como um dímero, exigindo dois construtos com domínios de ligação de DNA únicos para sítios no genoma-alvo com orientação e espaçamento adequados. Tanto o número de resíduos de aminoácidos entre o domínio de ligação de DNA de TALE e o domínio de clivagem de FokI quanto o número de bases entre os dois sítios de ligação de TALEN individuais parecem ser parâmetros importantes para atingir níveis altos de atividade. Miller *et al.* (2011) *Nature Biotech.* 29: 143-8.

[0695] Uma TALEN HLA ou TCR pode ser usado dentro de uma célula para produzir uma quebra de fita dupla (DSB). Uma mutação pode ser introduzida no sítio de quebra se os mecanismos de reparo repararem inadequadamente a quebra por meio da união de extremidades não homólogas. Por exemplo, o reparo inadequado pode introduzir uma mutação de deslocamento de quadro. Alternativamente, DNA estranho pode ser introduzido na célula juntamente com a TALEN; dependendo das sequências do DNA estranho e da sequência cromossômica, esse processo pode ser usado para corrigir um defeito no gene HLA ou TCR ou introduz um defeito em um gene HLA ou TCR ts, diminuindo, assim, a expressão de HLA ou TCR.

[0696] TALENs específicas para as sequências em HLA ou TCR podem ser construídas com o uso de qualquer método conhecido na técnica, incluindo vários esquemas com o uso de componentes modulares. Zhang *et al.* (2011) *Nature Biotech.* 29: 149-53; Geibler *et al.* (2011) *PLoS ONE* 6: e19509.

Nuclease dedo de zinco para inibir HLA e/ou TCR

[0697] "ZFN" ou "Nuclease de Dedo de Zinco" ou "ZFN para HLA e/ou TCR" ou "ZFN para inibir HLA e/ou TCR" refere-se a uma nuclease de dedo de zinco, uma nuclease artificial que pode ser usada para editar o gene HLA e/ou TCR.

[0698] Como uma TALEN, uma ZFN compreende um domínio de nuclease de FokI (ou derivado do mesmo) fundido a um domínio de ligação a DNA. No caso de uma ZFN, o domínio de ligação a DNA compreende um ou mais dedos de zinco. Carroll *et al.* (2011) *Genetics Society of America* 188: 773-782; e Kim *et al.* (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 1156-1160.

[0699] Um dedo de zinco é um motivo estrutural de proteína pequena estabilizado por um ou mais íons de zinco. Um dedo de zinco pode compreender, por exemplo, Cys2His2, e pode reconhecer uma sequência de aproximadamente 3 pb. Vários dedos de zinco de especificidade conhecida podem ser combinados para produzir polipeptídeos de múltiplos dedos que reconhecem sequências de cerca de 6, 9, 12, 15 ou 18 pares de bases. Várias técnicas de seleção e montagem modular estão disponíveis para gerar dedos de zinco (e combinações dos mesmos) que reconhecem sequências específicas, incluindo exibição em fagos, sistemas de um híbrido de levedura, sistemas de um híbrido e dois híbridos bacterianos e células de mamífero.

[0700] Como uma TALEN, uma ZFN precisa dimerizar para clivar DNA. Assim, um par de ZFNs é necessário para visar sítios de DNA não palindrômicos. As duas ZFNs individuais precisam se ligar a fitas opostas do DNA com suas nucleases adequadamente afastadas. Bitinaite *et al.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 10570-5.

[0701] Além disso, como uma TALEN, uma ZFN pode criar uma quebra de fita dupla no DNA, que pode criar uma mutação de

deslocamento de quadro se reparada inadequadamente, levando a uma diminuição na expressão e na quantidade de HLA e/ou TCR em uma célula. As ZFNs podem ser também usadas com recombinação homóloga para gerar mutação no gene HLA ou TCR.

[0702] ZFNs específicas para as sequências em HLA e/ou TCR podem ser construídas com o uso de qualquer método conhecido na técnica. Ver, por exemplo, Provasi (2011) *Nature Med.* 18: 807-815; Torikai (2013) *Blood* 122: 1341-1349; Cathomen *et al.* (2008) *Mol. Ther.* 16: 1200-7; Guo *et al.* (2010) *J. Mol. Biol.* 400: 96; Publicação de Patente U.S. 2011/0158957; e Publicação de Patente U.S. 2012/0060230.

Expressão de Telomerase

[0703] Não pretendendo ficar restringido por qualquer teoria particular, em algumas modalidades, uma célula T terapêutica tem persistência de curta duração em um paciente, devido a telômeros encurtados na célula T; em conformidade, transfecção com um gene de telomerase pode estender os telômeros da célula T e melhorar a persistência da célula T no paciente. Ver Carl June, "Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic", *Journal of Clinical Investigation*, 117:1466-1476 (2007). Assim, em uma modalidade, uma célula efetora imune, por exemplo, uma célula T, expressa ectopicamente uma subunidade de telomerase, por exemplo, a subunidade catalítica de telomerase, por exemplo, TERT, por exemplo, hTERT. Em alguns aspectos, esta revelação proporciona um método de produção de uma célula expressando CAR, compreendendo contatar uma célula com um ácido nucleico codificando uma subunidade de telomerase, por exemplo, a subunidade catalítica de telomerase, por exemplo, TERT, por exemplo, hTERT. A célula pode ser contatada com o ácido nucleico antes, simultaneamente ou depois de ser contatada com um construto codificando um CAR.

[0704] Em um aspecto, a revelação apresenta um método de

preparação de uma população de células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK). Em uma modalidade, o método compreende: proporcionar uma população de células efetoras imunes (por exemplo, células T ou células NK), contatar a população de células efetoras imunes com um ácido nucleico codificando um CAR; e contatar a população de células efetoras imunes com um ácido nucleico codificando uma subunidade de telomerase, por exemplo, hTERT, sob condições que permitem a expressão do CAR e telomerase.

[0705] Em uma modalidade, o ácido nucleico codificando a subunidade de telomerase é DNA. Em uma modalidade, o ácido nucleico codificando a subunidade de telomerase compreende um promotor capaz de conduzir a expressão da subunidade de telomerase.

[0706] Em uma modalidade, hTERT tem a sequência de aminoácidos do GenBank Proteína ID AAC51724.1 (Meyerson *et al.*, "hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells and during Immortalization" *Cell* Volume 90, Fascículo 4, 22 de agosto de 1997, Páginas 785–795) como se segue:

MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLGPQGWRLVQRGDPAAFRALVA
QCLVCVPWDARPPPAAPSFRQVSCLKELVARVLQRLCERGAKNVLAFGFALL
DGARGGPPEAFTTSVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDDVLVHLLARC
ALFVLVAPSCAYQVCGPPLYQLGAATQARPPPHASGPRRRLGCERAWNHSVR
EAGVPLGLPAPGARRRGGSASRSLPLPKRPRRGAAPEPERTPVGQGSWAHPG
RTRGPSDRGFCVVSPARPAEEATSLEGALSGTRHSHPSVGRQHHAGPPSTSR
PPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLSSLRPSLTGARRLVETI
FLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTHCPLR
AAVTPAAGVCAREKPQGSVAAPEEEDTDPRRLVQLLRQHSSPWQVYGFVRAC
LRRLVPPGLWGSRHNERRFLRNTKKFISLGKHAKLSLQELTWKMSVRGCAWL
RRSPGVGCVPAAEHRLREEILAKFLHWLMSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNR
LFFYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVQLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFI
PKPDGLRPIVNMDYVVGARTFRREKRAERLTSRVKALFSVLNYERARRPGLL
GASVLGLDDIHRAWRTFVLRVRAQDPPPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEV

IASIIKPQNTYCVRRYAVVQKAAHGHVRKAFKSHVSTLTDLQPYMRQFVAHL
QETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGLFDVFLRFMCHHAVRIRGKSYVQCQGIP
QGSILSTLLCSLCYGDMENKLFAGIRRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTHAKTFL
RTLVRGVPEYGCVVNLRKTVVNFPVEDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCGLLLD
TRTLEVQSDYSSYARTSIRASLTFNRGFKAGRNMRRKLFGVLRLKCHSLFLD
LQVNSLQTVCTNIYKILLLQAYRFHACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTA
SLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAGPLPSEAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPL
LGSLRTAQTQLSRKLPGTTLTALEAAANPALPSDFKTILD (SEQ ID Nº: 63)

[0707] Em uma modalidade, a hTERT tem uma sequência pelo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID Nº: 63. Em uma modalidade, a hTERT tem uma sequência de SEQ ID Nº: 63. Em uma modalidade, a hTERT compreende uma deleção (por exemplo, de não mais do que 5, 10, 15, 20 ou 30 aminoácidos) no N terminal, no C terminal ou ambos. Em uma modalidade, a hTERT compreende uma sequência de aminoácidos transgênica (por exemplo, com não mais do que 5, 10, 15, 20 ou 30 aminoácidos) no N terminal, no C terminal ou ambos.

[0708] Em uma modalidade, a hTERT é codificada pela sequência de ácido nucleico de GenBank Nº de Acesso AF018167 (Meyerson *et al.*, "hEST2, the Putative Human Telomerase Catalytic Subunit Gene, Is Up-Regulated in Tumor Cells e during Immortalization" *Cell* Volume 90, Fascículo 4, 22 de agosto de 1997, Páginas 785–795):

1 caggcagcgt ggtcctgctg cgcacgtggg aagccctggc cccggccacc cccgcgatgc
61 cgcgcgctcc ccgctgccga gccgtgcgct ccctgctgcg cagccactac cgcgaggtgc
121 tgccgctggc cacgttcgtg cggcgcctgg ggccccaggg ctggcggctg gtgcagcgcg
181 gggacccggc ggctttccgc gcgctggtgg cccagtgcct ggtgtgcgtg ccctgggacg
241 cacggccgcc ccccgccgcc ccctccttcc gccaggtgtc ctgcctgaag gagctggtgg
301 cccgagtgct gcagaggctg tgcgagcgcg gcgcgaagaa cgtgctggcc ttcggcttcg
361 cgctgctgga cggggcccgc gggggccccc ccgaggcctt caccaccagc gtgcgcagct
421 acctgcccaa cacggtgacc gacgcactgc gggggagcgg ggcgtggggg ctgctgttgc
481 gccgcgtggg cgacgacgtg ctggttcacc tgctggcacg ctgcgcgctc tttgtgctgg
541 tggctcccag ctgcgcctac caggtgtgcg ggccgccgct gtaccagctc ggcgctgcca

601 ctcaggcccg gcccccgcca cacgctagtg gaccccgaag gcgtctggga tgcgaacggg
661 cctggaacca tagcgtcagg gaggccgggg tccccctggg cctgccagcc ccgggtgcga
721 ggaggcgcgg gggcagtgcc agccgaagtc tgccgttgcc caagaggccc aggcgtggcg
781 ctgcccctga gccggagcgg acgcccgttg ggcaggggtc ctgggcccac ccgggcagga
841 cgcgtggacc gagtgaccgt ggtttctgtg tggtgtcacc tgccagaccc gccgaagaag
901 ccacctcttt ggagggtgcg ctctctggca cgcgccactc ccacccatcc gtgggccgcc
961 agcaccacgc gggcccccca tccacatcgc ggccaccacg tccctgggac acgccttgtc
1021 ccccggtgta cgccgagacc aagcacttcc tctactcctc aggcgacaag gagcagctgc
1081 ggccctcctt cctactcagc tctctgaggc ccagcctgac tggcgctcgg aggctcgtgg
1141 agaccatctt tctgggttcc aggccctgga tgccagggac tccccgcagg ttgccccgcc
1201 tgccccagcg ctactggcaa atgcggcccc tgtttctgga gctgcttggg aaccacgcgc
1261 agtgccccta cggggtgctc ctcaagacgc actgcccgct gcgagctgcg gtcaccccag
1321 cagccggtgt ctgtgcccgg gagaagcccc agggctctgt ggcggccccc gaggaggagg
1381 acacagaccc ccgtcgcctg gtgcagctgc tccgccagca cagcagcccc tggcaggtgt
1441 acggcttcgt gcgggcctgc ctgcgccggc tggtgccccc aggcctctgg ggctccaggc
1501 acaacgaacg ccgcttcctc aggaacacca agaagttcat ctccctgggg aagcatgcca
1561 agctctcgct gcaggagctg acgtggaaga tgagcgtgcg gggctgcgct tggctgcgca
1621 ggagcccagg ggttggctgt gttccggccg cagagcaccg tctgcgtgag gagatcctgg
1681 ccaagttcct gcactggctg atgagtgtgt acgtcgtcga gctgctcagg tctttctttt
1741 atgtcacgga gaccacgttt caaaagaaca ggctcttttt ctaccggaag agtgtctgga
1801 gcaagttgca aagcattgga atcagacagc acttgaagag ggtgcagctg cgggagctgt
1861 cggaagcaga ggtcaggcag catcgggaag ccaggcccgc cctgctgacg tccagactcc
1921 gcttcatccc caagcctgac gggctgcggc cgattgtgaa catggactac gtcgtgggag
1981 ccagaacgtt ccgcagagaa aagagggccg agcgtctcac ctcgagggtg aaggcactgt
2041 tcagcgtgct caactacgag cgggcgcggc gccccggcct cctgggcgcc tctgtgctgg
2101 gcctggacga tatccacagg gcctggcgca ccttcgtgct gcgtgtgcgg gcccaggacc
2161 cgccgcctga gctgtacttt gtcaaggtgg atgtgacggg cgcgtacgac accatccccc
2221 aggacaggct cacggaggtc atcgccagca tcatcaaacc ccagaacacg tactgcgtgc
2281 gtcggtatgc cgtggtccag aaggccgccc atgggcacgt ccgcaaggcc ttcaagagcc
2341 acgtctctac cttgacagac ctccagccgt acatgcgaca gttcgtggct cacctgcagg
2401 agaccagccc gctgagggat gccgtcgtca tcgagcagag ctcctccctg aatgaggcca
2461 gcagtggcct cttcgacgtc ttcctacgct tcatgtgcca ccacgccgtg cgcatcaggg
2521 gcaagtccta cgtccagtgc caggggatcc cgcagggctc catcctctcc acgctgctct
2581 gcagcctgtg ctacggcgac atggagaaca agctgtttgc ggggattcgg cgggacgggc
2641 tgctcctgcg tttggtggat gatttcttgt tggtgacacc tcacctcacc cacgcgaaaa
2701 ccttcctcag gaccctggtc cgaggtgtcc ctgagtatgg ctgcgtggtg aacttgcgga

2761 agacagtggt gaacttccct gtagaagacg aggccctggg tggcacggct tttgttcaga
2821 tgccggccca cggcctattc ccctggtgcg gcctgctgct ggatacccgg accctggagg
2881 tgcagagcga ctactccagc tatgcccgga cctccatcag agccagtctc accttcaacc
2941 gcggcttcaa ggctgggagg aacatgcgtc gcaaactctt tggggtcttg cggctgaagt
3001 gtcacagcct gtttctggat ttgcaggtga acagcctcca gacggtgtgc accaacatct
3061 acaagatcct cctgctgcag gcgtacaggt ttcacgcatg tgtgctgcag ctcccatttc
3121 atcagcaagt ttggaagaac cccacatttt tcctgcgcgt catctctgac acggcctccc
3181 tctgctactc catcctgaaa gccaagaacg cagggatgtc gctgggggcc aagggcgccg
3241 ccggccctct gccctccgag gccgtgcagt ggctgtgcca ccaagcattc ctgctcaagc
3301 tgactcgaca ccgtgtcacc tacgtgccac tcctggggtc actcaggaca gcccagacgc
3361 agctgagtcg gaagctcccg gggacgacgc tgactgccct ggaggccgca gccaacccgg
3421 cactgccctc agacttcaag accatcctgg actgatggcc acccgcccac agccaggccg
3481 agagcagaca ccagcagccc tgtcacgccg ggctctacgt cccagggagg gaggggcggc
3541 ccacacccag gcccgcaccg ctgggagtct gaggcctgag tgagtgtttg gccgaggcct
3601 gcatgtccgg ctgaaggctg agtgtccggc tgaggcctga gcgagtgtcc agccaagggc
3661 tgagtgtcca gcacacctgc cgtcttcact tccccacagg ctggcgctcg gctccacccc
3721 agggccagct tttcctcacc aggagcccgg cttccactcc ccacatagga atagtccatc
3781 cccagattcg ccattgttca cccctcgccc tgccctcctt tgccttccac ccccaccatc
3841 caggtggaga ccctgagaag gaccctggga gctctgggaa tttggagtga ccaaaggtgt
3901 gccctgtaca caggcgagga ccctgcacct ggatgggggt ccctgtgggt caaattgggg
3961 ggaggtgctg tgggagtaaa atactgaata tatgagtttt tcagttttga aaaaaaaaaa
4021 aaaaaaa (SEQ ID Nº: 64)

[0709] Em uma modalidade, a hTERT é codificada por um ácido nucleico tendo uma sequência pelo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de SEQ ID Nº: 64. Em uma modalidade, a hTERT é codificada por um ácido nucleico de SEQ ID Nº: 64.

Ativação e Expansão de Células Efetoras Imunes (por exemplo, Células T)

[0710] Células efetoras imunes, tais como células T, podem ser ativadas e expandidas geralmente usando métodos como descrito, por exemplo, nas Patentes Nºs U.S. 6.352.694; 6.534.055; 6.905.680; 6.692.964; 5.858.358; 6.887.466; 6.905.681; 7,144.575; 7.067.318; 7.172.869; 7.32.566; 7.175.843; 5.883.223; 6.905.874; 6.797.514; 6,867,041; e Publicação do Pedido de Patente Nº U.S. 20060121005.

[0711] Geralmente, uma população de células efetoras imunes, por exemplo, células depletadas de células T reguladoras, pode ser expandida por contato com uma superfície tendo ligado um agente que estimula um sinal associado ao complexo CD3/TCR e um ligante que estimula uma molécula coestimuladora na superfície das células T. Em particular, populações de células T podem ser estimuladas como descrito aqui, tal como por contato com um anticorpo anti-CD3, ou seu fragmento de ligação a antígenos, ou um anticorpo anti-CD2 imobilizado em uma superfície, ou por contato com um ativador de proteína quinase C (por exemplo, briostatina) em conjunção com um ionóforo de cálcio. Para a coestimulação de uma molécula acessória na superfície das células T é usado um ligante que se liga à molécula acessória. Por exemplo, uma população de células T pode ser contatada com um anticorpo anti-CD3 e um anticorpo anti-CD28, sob condições apropriadas para estimular a proliferação das células T. Para estimular a proliferação de células T CD4+ ou células T CD8+, podem ser usados um anticorpo anti-CD3 e um anticorpo anti-CD28. Exemplos de um anticorpo anti-CD28 incluem 9.3, B-T3, XR-CD28 (Diaclone, Besançon, França) que podem ser usados, bem como outros métodos habitualmente conhecidos na técnica (Berg *et al., Transplant Proc.* 30(8):3975-3977, 1998; Haanen *et al., J. Exp. Med.* 190(9):13191328, 1999; Garland *et al., J. Immunol Meth.* 227(1-2):53-63, 1999).

[0712] Em certos aspectos, o sinal estimulador primário e o sinal coestimulador para a célula T podem ser proporcionados por protocolos diferentes. Por exemplo, os agentes proporcionando cada sinal podem estar em solução ou acoplados a uma superfície. Quando acoplados a uma superfície, os agentes podem estar acoplados à mesma superfície (isto é, em formação "cis") ou a superfícies separadas (isto é, em formação "trans"). Alternativamente, um agente pode estar acoplado a uma superfície e o outro agente em solução. Em um aspecto, o agente

proporcionando o sinal coestimulador está ligado a uma superfície celular e o agente proporcionando o sinal de ativação primário está em solução ou acoplado a uma superfície. Em certos aspectos, os dois agentes podem estar em solução. Em um aspecto, os agentes podem estar em forma solúvel, e então serem reticulados a uma superfície, tal como uma célula expressando receptores de Fc ou um anticorpo ou outro agente de ligação que irá se ligar aos agentes. Nesse sentido, ver, por exemplo, Publicações dos Pedidos de Patentes Nºs U.S. 20040101519 e 20060034810 quanto a células apresentadoras de antígenos artificiais (aAPCs) que são contempladas para uso na ativação e expansão de células T na presente invenção.

[0713] Em um aspecto, os dois agentes são imobilizados em esférulas, na mesma esférula, isto é, "cis" ou em esférulas separadas, isto é, "trans". A título exemplificativo, o agente proporcionando o sinal de ativação primário é um anticorpo anti-CD3 ou um seu fragmento de ligação a antígenos e o agente proporcionando o sinal coestimulador é um anticorpo anti-CD28 ou seu fragmento de ligação a antígenos; e os dois agentes são coimobilizados na mesma esférula em quantidades moleculares equivalentes. Em um aspecto, é usada uma razão 1:1 de cada anticorpo ligado às esférulas para expansão de células T CD4+ e crescimento de células T. Em certos aspectos da presente invenção, é usada uma razão de anticorpos anti CD3:CD28 ligados às esférulas de modo a ser observado um aumento da expansão de células T em comparação com a expansão observada usando uma razão de 1:1. Em um aspecto particular, um aumento de cerca de 1 a cerca de 3 vezes é observado em comparação com a expansão observada usando uma razão de 1:1. Em um aspecto, a razão de anticorpos para CD3:CD28 ligados às esférulas varia desde 100:1 até 1:100 e todos os valores inteiros entre estes. Em um aspecto, mais anticorpo anti-CD28 é ligado às partículas do que anticorpo anti-CD3, isto é, a razão de CD3:CD28 é

menor do que um. Em certos aspectos, a razão de anticorpo anti-CD28 para anticorpo anti-CD3 ligados às esférulas é maior do que 2:1. Em um aspecto particular, é usada uma razão 1:100 de CD3:CD28 de anticorpos ligados a esférulas. Em um aspecto é usada uma razão 1:75 de CD3:CD28 de anticorpos ligados a esférulas. Em um aspecto adicional, é usada uma razão 1:50 de CD3:CD28 de anticorpos ligados a esférulas. Em um aspecto, é usada uma razão 1:30 de CD3:CD28 de anticorpos ligados a esférulas. Em um aspecto preferencial, é usada uma razão 1:10 de CD3:CD28 de anticorpos ligados a esférulas. Em um aspecto, é usada uma razão 1:3 de CD3:CD28 de anticorpos ligados às esférulas. Ainda em um aspecto, é usada uma razão 3:1 de CD3:CD28 de anticorpos ligados às esférulas.

[0714] Razões de partículas para células desde 1:500 até 500:1 e quaisquer valores inteiros entre estes podem ser usadas para estimular células T ou outras células-alvo. Como será prontamente apreciado pelos peritos na técnica, a razão de partículas para células pode depender do tamanho das partículas relativamente à célula-alvo. Por exemplo, esférulas de pequeno tamanho podem ligar somente algumas células, ao passo que esférulas maiores podem ligar muitas. Em certos aspectos, a razão de células para partículas varia desde 1:100 até 100:1 e quaisquer valores inteiros entre estes e, em aspectos adicionais, a razão compreende 1:9 até 9:1 e quaisquer valores inteiros entre estes também podem ser usados para estimular células T. A razão de partículas acopladas a anti-CD3 e anti-CD28 para células T que resulta em estimulação de células T pode variar como notado acima, no entanto, certos valores preferenciais incluem 1:100, 1:50, 1:40, 1:30, 1:20, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1 e 15:1, com uma razão preferencial sendo pelo menos 1:1 partículas por célula T. Em um aspecto é usada uma razão de partículas para células de 1:1 ou menos. Em um aspecto particular, uma

razão preferencial partícula:célula é 1:5. Em aspectos adicionais, a razão de partículas para células pode ser variada dependendo do dia da estimulação. Por exemplo, em um aspecto, a razão de partículas para células vai desde 1:1 até 10:1 no primeiro dia e partículas adicionais são adicionadas às células todos os dias ou em dias alternados daí em diante durante um período até 10 dias, a razões finais desde 1:1 até 1:10 (com base em contagens de células no dia da adição). Em um aspecto particular, a razão de partículas para células é 1:1 no primeiro dia da estimulação e é ajustada para 1:5 no terceiro e quinto dias da estimulação. Em um aspecto, partículas são adicionadas em uma base diária ou de dias alternados para uma razão final de 1:1 no primeiro dia, e 1:5 no terceiro e quinto dias da estimulação. Em um aspecto, a razão de partículas para células é 2:1 no primeiro dia da estimulação e é ajustada para 1:10 no terceiro e quinto dias da estimulação. Em um aspecto, partículas são adicionadas em uma base diária ou de dias alternados para uma razão final de 1:1 no primeiro dia, e 1:10 no terceiro e quinto dias da estimulação. O perito na técnica perceberá que uma variedade de outras razões pode ser adequadas para uso na presente invenção. Em particular, as razões irão variar dependendo do tamanho das partículas e do tamanho e tipo de células. Em um aspecto, as razões mais típicas para uso se encontram na vizinhança de 1:1, 2:1 e 3:1 no primeiro dia.

[0715] Em aspectos adicionais, as células, tais como células T, são combinadas com esférulas revestidas com agentes, as esférulas e as células são subsequentemente separadas, e então as células são cultivadas. Em um aspecto alternativo, antes da cultura, as esférulas revestidas com agentes e células não são separadas mas são cultivadas em conjunto. Em um aspecto adicional, as esférulas e células são primeiramente concentradas por aplicação de uma força, tal como uma força magnética, resultando em ligação acrescida de marcadores

da superfície celular, desse modo induzindo estimulação de células.

[0716] A título exemplificativo, proteínas da superfície celular podem ser ligadas ao permitir que esférulas paramagnéticas às quais estão ligados o anti-CD3 e anti-CD28 (3x28 esférulas) contatem as células T. Em um aspecto, as células (por exemplo, 10^4 até 10^9 células T) e esférulas (por exemplo, esférulas paramagnéticas T CD3/CD28 DYNABEADS® M-450 a uma razão de 1:1) são combinadas em um tampão, por exemplo, PBS (sem cátions divalentes tais como cálcio e magnésio). Mais uma vez, os peritos na técnica podem prontamente apreciar que qualquer concentração de células pode ser usada. Por exemplo, a célula-alvo pode ser muito rara na amostra e compreender somente 0,01% da amostra ou a totalidade da amostra (isto é, 100%) pode compreender a célula-alvo de interesse. Em conformidade, qualquer número de células está dentro do contexto da presente invenção. Em certos aspectos, pode ser desejável diminuir significativamente o volume no qual partículas e células são misturadas em conjunto (isto é, aumentar a concentração de células), para assegurar contato máximo de células e partículas. Por exemplo, em um aspecto, é usada uma concentração de cerca de 10 bilhões de células/mL, 9 bilhões/mL, 8 bilhões/mL, 7 bilhões/mL, 6 bilhões/mL, 5 bilhões/mL ou 2 bilhões/mL. Em um aspecto são usadas mais de 100 milhões de células/mL. Em um aspecto adicional, uma concentração de células de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ou 50 milhões de células/mL é usada. Ainda em um aspecto, uma concentração de células desde 75, 80, 85, 90, 95, ou 100 milhões de células/mL é usada. Em aspectos adicionais, concentrações de 125 ou 150 milhões de células/mL podem ser usadas. O uso de concentrações elevadas pode resultar em rendimento de células, ativação de células, e expansão de células aumentados. Além disso, o uso de concentrações elevadas de células permite uma captura mais eficiente de células que podem expressar

fracamente antígenos-alvo de interesse, tais como células T negativas para CD28. Tais populações de células podem ter valor terapêutico e será desejável obtê-las em certos aspectos. Por exemplo, o uso de uma concentração elevada de células permite uma seleção mais eficiente de células T CD8+ que normalmente têm expressão mais fraca de CD28.

[0717] Em uma modalidade, células transduzidas com um ácido nucleico codificando um CAR, por exemplo, um CAR descrito aqui, são expandidas, por exemplo, por um método descrito aqui. Em uma modalidade, as células são expandidas em cultura durante um período de várias horas (por exemplo, cerca de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 18, 21 horas) até cerca de 14 dias (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ou 14 dias). Em uma modalidade, as células são expandidas durante um período de 4 até 9 dias. Em uma modalidade, as células são expandidas durante um período de 8 dias ou menos, por exemplo, 7, 6 ou 5 dias. Em uma modalidade, as células, por exemplo, uma célula CAR CD19 descrita aqui, são expandidas em cultura durante 5 dias, e as células resultantes são mais potentes do que as mesmas células expandidas em cultura durante 9 dias sob as mesmas condições de cultura. A potência pode ser definida, por exemplo, por várias funções de células T, por exemplo, proliferação, morte de células-alvo, produção de citocinas, ativação, migração, ou suas combinações. Em uma modalidade, as células, por exemplo, uma célula CAR CD19 descrita aqui, expandidas durante 5 dias exibem um aumento de pelo menos uma, duas, três ou quatro vezes em duplicações de células por estimulação com antígenos em comparação com as mesmas células expandidas em cultura durante 9 dias sob as mesmas condições de cultura. Em uma modalidade, as células, por exemplo, as células expressando um CAR CD19 descrito aqui, são expandidas em cultura durante 5 dias, e as células resultantes exibem produção mais elevada de citocinas pró-inflamatórias, por exemplo, níveis de IFN-γ e/ou GM-

CSF, em comparação com as mesmas células expandidas em cultura durante 9 dias sob as mesmas condições de cultura. Em uma modalidade, as células, por exemplo, uma célula CAR CD19 descrita aqui, expandidas durante 5 dias exibem um aumento de pelo menos uma, duas, três, quatro, cinco, dez vezes ou mais em pg/mL de produção de citocinas pró-inflamatórias, por exemplo, níveis de IFN-γ e/ou GM-CSF, em comparação com as mesmas células expandidas em cultura durante 9 dias sob as mesmas condições de cultura.

[0718] Também podem ser desejados vários ciclos de estimulação, de modo que o tempo de cultura de células T pode ser 60 dias ou mais. Condições apropriadas para cultura de células T incluem um meio apropriado (por exemplo, Meio Mínimo Essencial ou meio RPMI 1640 ou X-vivo 15 (Lonza)) que pode conter fatores necessários para a proliferação e viabilidade, incluindo soro (por exemplo, soro fetal de bovino ou humano), interleucina-2 (IL-2), insulina, IFN-γ, IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGFβ e TNF-α ou quaisquer outros aditivos para o crescimento de células conhecidos do perito. Outros aditivos para o crescimento de células incluem, mas não se limitam a, tensoativo, Plasmanate e agentes redutores tais como N-acetil-cisteína e 2-mercaptoetanol. Meio pode incluir RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α-MEM, F-12, X-Vivo 15 e X-Vivo 20, Optimizer, com aminoácidos adicionados, piruvato de sódio e vitaminas, sem soro ou suplementado com uma quantidade apropriada de soro (ou plasma) ou um conjunto definido de hormônios, e/ou uma quantidade de citocina(s) suficiente para o crescimento e expansão de células T. Antibióticos, por exemplo, penicilina e estreptomicina, são incluídos somente em culturas experimentais, não em culturas de células a serem infundidas em um sujeito. As células-alvo são mantidas sob condições necessárias para suportar o crescimento, por exemplo, uma temperatura (por exemplo, 37 °C) e atmosfera (por exemplo, ar mais 5% de CO_2) apropriadas.

[0719] Em uma modalidade, as células são expandidas em um meio apropriado (por exemplo, meio descrito aqui) que inclui uma ou mais interleucinas que resultam em um aumento de pelo menos 200 vezes (por exemplo, 200 vezes, 250 vezes, 300 vezes, 350 vezes) em células ao longo de um período de expansão de 14 dias, por exemplo, medido por um método descrito aqui tal como citometria de fluxo. Em uma modalidade, as células são expandidas na presença de IL-15 e/ou IL-7 (por exemplo, IL-15 e IL-7).

[0720] Em modalidades, métodos descritos aqui, por exemplo, métodos de preparação de células expressando CAR, compreendem remover células T reguladoras, por exemplo, células T CD25+, de uma população de células, por exemplo, usando um anticorpo anti-CD25, ou seu fragmento, ou um ligante de ligação a CD25, IL-2. Métodos para remover células T reguladoras, por exemplo, células T CD25+, de uma população de células são descritos aqui. Em modalidades, os métodos, por exemplo, métodos de preparação, compreendem adicionalmente contatar uma população de células (por exemplo, uma população de células na qual células T reguladoras, tais como células T CD25+, foram depletadas; ou uma população de células que foi previamente contatada com um anticorpo anti-CD25, seu fragmento, ou ligante de ligação a CD25) com IL-15 e/ou IL-7. Por exemplo, a população de células (por exemplo, que foi previamente contatada com um anticorpo anti-CD25, seu fragmento ou ligante de ligação a CD25) é expandida na presença de IL-15 e/ou IL-7.

[0721] Em algumas modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é contatada com uma composição compreendendo um polipeptídeo de interleucina-15 (IL-15), um polipeptídeo do receptor de interleucina-15 alfa (IL-15Ra), ou uma combinação de um polipeptídeo de IL-15 e um polipeptídeo de IL-15Ra, por exemplo, hetIL-15, durante a preparação da célula expressando CAR, por exemplo, *ex vivo*. Em

modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é contatada com uma composição compreendendo um polipeptídeo de IL-15 durante a preparação da célula expressando CAR, por exemplo, *ex vivo*. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é contatada com uma composição compreendendo uma combinação de um polipeptídeo de IL-15 e um polipeptídeo de IL-15 Ra durante a preparação da célula expressando CAR, por exemplo, *ex vivo*. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é contatada com uma composição compreendendo hetIL-15 durante a preparação da célula expressando CAR, por exemplo, *ex vivo*.

[0722] Em uma modalidade, a célula expressando CAR descrita aqui é contatada com uma composição compreendendo hetIL-15 durante expansão *ex vivo*. Em uma modalidade, a célula expressando CAR descrita aqui é contatada com uma composição compreendendo um polipeptídeo de IL-15 durante expansão *ex vivo*. Em uma modalidade, a célula expressando CAR descrita aqui é contatada com uma composição compreendendo um polipeptídeo de IL-15 e um polipeptídeo de IL-15Ra durante expansão *ex vivo*. Em uma modalidade, o contato resulta na sobrevivência e proliferação de uma subpopulação de linfócitos, por exemplo, células T CD8+.

[0723] Células T que foram expostas a tempos de estimulação variados podem exibir diferentes características. Por exemplo, produtos típicos de células do sangue ou de células mononucleares do sangue periférico submetidas a aférese têm uma população de células T auxiliadoras (TH, CD4+) que é maior do que a população de células T citotóxicas ou supressoras (TC, CD8+). A expansão *ex vivo* de células T por estimulação dos receptores CD3 e CD28 produz uma população de células T que, antes de cerca de 8-9 dias, consiste predominantemente em células TH, ao passo que, passados cerca de 8-9 dias, a população de células T compreende uma população cada

vez maior de células TC. Em conformidade, dependendo do propósito do tratamento, a infusão de um sujeito com uma população de células T compreendendo predominantemente células TH pode ser vantajosa. Similarmente, se um subconjunto de células TC específicas para antígeno tiver sido isolado, pode ser benéfico expandir este subconjunto em um grau maior.

[0724] Além disso, para além de marcadores de CD4 e CD8, outros marcadores fenotípicos variam significativamente mas, em grande parte, de modo reproduzível durante o processo da expansão celular. Assim, tal caráter reproduzível permite personalizar um produto de células T ativadas para propósitos específicos.

[0725] Depois de construído um CAR descrito aqui, vários ensaios podem ser usados para avaliar a atividade da molécula, tais como, mas não se limitando à, capacidade de expandir células T após estimulação por antígenos, sustentar a expansão de células T na ausência de re-estimulação, e atividades anticancerígenas em modelos *in vitro* e animais apropriados. Ensaios para avaliar os efeitos de um CAR da presente invenção são descritos em mais detalhe abaixo

[0726] A análise por transferência Western da expressão de CAR em células T primárias pode ser usada para detectar a presença de monômeros e dímeros. Ver, por exemplo, Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). Muito brevemente, as células T (mistura 1:1 de células T $CD4^+$ e $CD8^+$) que expressam os CARs são expandidas *in vitro* por mais de 10 dias, seguido de lise e SDS-PAGE sob condições de redução. CARs contendo o domínio citoplasmático de TCR-ζ completo e a cadeia TCR-ζ endógena são detectados por transferência Western com o uso de um anticorpo para a cadeia TCR-ζ. Os mesmos subconjuntos de células T são usados para análise SDS-PAGE sob condições não redutoras para permitir a avaliação da formação de dímeros covalentes.

[0727] A expansão *in vitro* de células T CAR+ após a estimulação com antígeno pode ser medida por citometria de fluxo. Por exemplo, uma mistura de células T CD4+ e CD8+ é estimulada com aAPCs αCD3/αCD28 seguido por transdução com vetores lentivirais que expressam GFP sob o controle dos promotores a serem analisados. Promotores exemplificativos incluem promotores do gene IE do CMV, EF-1α, ubiquitina C ou fosfogliceroquinase (PGK). A fluorescência de GFP é avaliada no dia 6 de cultura nos subconjuntos de células T CD4+ e/ou CD8+ por citometria de fluxo. Ver, por exemplo, Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). Alternativamente, uma mistura de células T CD4+ e CD8+ é estimulada com microesferas magnéticas revestidas com αCD3/αCD28 no dia 0 e transduzida com CAR no dia 1 com o uso de um vetor lentiviral bicistrônico que expressa CAR juntamente com eGFP com o uso de sequência de omissão ribossômica 2A. As culturas são estimuladas novamente com um antígeno associado a câncer como descrito aqui+ células K562 (K562 expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui), células K562 de tipo selvagem (K562 de tipo selvagem) ou células K562 expressando hCD32 e 4-1BBL na presença de anticorpo anti-CD3 e anti-CD28 (K562-BBL-3/28) após lavagem. IL-2 exógena é adicionada às culturas em dias alternados a 100 IU/mL. As células T GFP+ são enumeradas por citometria de fluxo com o uso de contagem baseada em microesfera. Ver, por exemplo, Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009).

[0728] A expansão sustentada de células T CAR+ na ausência de re-estimulação pode ser também medida. Ver, por exemplo, Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). Em resumo, o volume médio de células T (fl) é medido no dia 8 da cultura usando um contador de partículas Coulter Multisizer III, um Nexcelom Cellometer Vision ou Millipore Scepter, após estimulação com esférulas magnéticas

revestidas com αCD3/αCD28 no dia 0 e transdução com o CAR indicado no dia 1.

[0729] Modelos de animal podem ser também usados para medir uma atividade de CART. Por exemplo, pode ser usado um modelo de xenoenxerto usando células T CAR$^+$ específicas para um antígeno associado a câncer humano descrito aqui para tratar uma ALL pré-B humana primária em camundongos imunodeficientes. Ver, por exemplo, Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). Muito brevemente, após estabelecimento de ALL, os camundongos são randomizados quanto aos grupos de tratamento. Diferentes números de células T manipuladas com CAR específico para um antígeno associado a câncer são coinjetadas a uma razão de 1:1 em camundongos NOD-SCID-$\gamma^{-/-}$ com ALL B. O número de cópias de um vetor de CAR específico para um antígeno associado a câncer em DNA de baço de camundongos é avaliado em vários momentos após a injeção de células T. Os animais são avaliados quanto a leucemia em intervalos semanais. Contagens de blastócitos de ALL B do sangue periférico com um antígeno associado a câncer descrito aqui$^+$ são medidas em camundongos que são injetados com células T ζ CAR$^+$ com um antígeno associado a câncer descrito aqui ou células T pseudotransduzidas. As curvas de sobrevida para os grupos são comparadas com o uso do teste de log-rank. Adicionalmente, contagens absolutas de células T CD4$^+$ e CD8$^+$ de sangue periférico 4 semanas após a injeção de células T em camundongos NOD-SCID-$\gamma^{-/-}$ podem ser também analisadas. Os camundongos recebem por injeção células leucêmicas e 3 semanas depois recebem por injeção células T manipuladas para expressarem CAR por um vetor lentiviral bicistrônico que codifica o CAR ligado a eGFP. As células T são normalizadas para 45-50% de células T GFP$^+$ de entrada por mistura com células com transdução simulada antes da injeção e confirmadas por citometria de fluxo. Os animais são avaliados

quanto a leucemia em intervalos de uma semana. As curvas de sobrevida para os grupos de células T CAR+ são comparadas com o uso do teste de log-rank.

[0730] A resposta ao tratamento com CAR dependente de dose pode ser avaliada. Ver, por exemplo, Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). Por exemplo, sangue periférico é obtido 35 a 70 dias após o estabelecimento de leucemia em camundongos que receberam injeção no dia 21 de células T CAR, um número equivalente de células T com transdução simulada ou sem células T. Os camundongos de cada grupo são aleatoriamente sangrados para a determinação de contagens de blastócitos de ALL do sangue periférico com antígeno associado a câncer descrito aqui+ e, então, são mortos nos dias 35 e 49. Os animais remanescentes são avaliados nos dias 57 e 70.

[0731] A avaliação da proliferação celular e produção de citocinas foi previamente descrita, por exemplo, em Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). Em resumo, a avaliação da proliferação mediada por CAR é realizada em placas de microtitulação misturando células T lavadas com células K562 que expressam um antígeno associado a câncer descrito aqui (K19) ou CD32 e CD137 (KT32-BBL) para uma razão final de células T:K562 de 2:1. As células K562 são irradiadas com radiação gama antes do uso. Anticorpos monoclonais anti-CD3 (clone OKT3) e anti-CD28 (clone 9.3) são adicionados a culturas com células KT32-BBL para servir como um controle positivo para estimular a proliferação de células T visto que esses sinais suportam expansão de células T CD8+ a longo prazo *ex vivo*. As células T são enumeradas em culturas com o uso de microesferas fluorescentes CountBright™ (Invitrogen, Carlsbad, CA) e citometria de fluxo, conforme descrito pelo fabricante. As células T CAR+ são identificadas por expressão de GFP com o uso de células T que são

manipuladas com vetores lentivirais que expressam CAR ligados a eGFP-2A. Para células T CAR+ que não expressam GFP, as células T CAR+ são detectadas com proteína recombinante biotinilada de um antígeno associado a câncer descrito aqui e um conjugado de avidina-PE secundário. A expressão de CD4+ e $CD8^+$ em células T é também simultaneamente detectada com anticorpos monoclonais específicos (BD Biosciences). As medições de citocinas são realizadas em sobrenadantes recolhidos 24 horas após nova estimulação usando o kit de arranjo de esférulas citométricas de citocinas TH1/TH2 humanas (BD Biosciences, San Diego, CA) de acordo com as instruções do fabricante. A fluorescência é avaliada usando um citômetro de fluxo FACScalibur e os dados são analisados de acordo com as instruções do fabricante.

[0732] A citotoxicidade pode ser avaliada por um ensaio de liberação de 51Cr padrão. Ver, por exemplo, Milone *et al., Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). Em resumo, as células-alvo (linhagens K562 e células de ALL pró-B primárias) são carregadas com 51Cr (como NaCrO4, New England Nuclear, Boston, MA) a 37°C por duas horas com agitação frequente, lavadas duas vezes em RPMI completo e colocadas em placas de microtitulação. As células T efetoras são misturadas com células-alvo nos poços em RPMI completo em razões variáveis de célula efetora:célula-alvo (E:T). Poços adicionais contendo meio apenas (liberação espontânea, SR) ou uma solução a 1% de detergente triton-X 100 (liberação total, TR) são também preparados. Após 4 horas de incubação a 37°C, o sobrenadante de cada poço é coletado. O 51Cr liberado é, então, medido com o uso de um contador de partículas gama (Packard Instrument Co., Waltham, MA). Cada condição é realizada pelo menos em triplicado, e a percentagem de lise é calculada com o uso da fórmula: % de Lise = (ER− SR) / (TR – SR), em que ER representa o 51Cr médio liberado para cada condição experimental.

[0733] Tecnologias de imagiologia podem ser usadas para avaliar o tráfego específico e a proliferação de CARs em modelos de animais portadores de tumor. Tais ensaios foram descritos, por exemplo, em Barrett *et al., Human Gene Therapy* 22:1575-1586 (2011). Em resumo, os camundongos NOD/SCID/$\gamma c^{-/-}$ (NSG) receberam por injeção IV células Nalm-6 seguidas por células T 7 dias depois 4 horas após eletroporação com construtos CAR. As células T são transfectadas estavelmente com um construto lentiviral para expressar luciferase de vagalume, e os camundongos são visualizados quanto à bioluminescência. Alternativamente, a eficácia e a especificidade terapêutica de uma única injeção de células T CAR^+ em modelo de xenoenxerto de Nalm-6 podem ser medidas do modo seguinte: Os camundongos NSG são injetados com Nalm-6 transduzidas para expressarem estavelmente luciferase de vagalume, seguido de uma única injeção na veia da cauda de células T eletroporadas com CARs da presente invenção 7 dias depois. Os animais são visualizados em vários momentos após a injeção. Por exemplo, podem ser gerados mapas térmicos de densidade de fótons de leucemia positiva para luciferase de vagalume em camundongos representativos no dia 5 (2 dias antes do tratamento) e no dia 8 (24 horas após PBLs CAR^+).

[0734] Outros ensaios, incluindo os descritos na seção Exemplos aqui bem como os que são conhecidos na técnica também podem ser usados para avaliar os CARs descritos aqui.

Aplicação Terapêutica

[0735] Em um aspecto, a invenção proporciona métodos para o tratamento de uma doença associada a expressão de um antígeno associado a câncer descrito aqui.

[0736] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são

manipuladas para expressarem um CAR X, em que X representa um antígeno tumoral como descrito aqui, e em que as células cancerígenas expressam o referido antígeno tumoral X.

[0737] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer ao proporcionar ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR X descrito aqui, em que as células cancerígenas expressam X. Em uma modalidade, X é expresso em células normais e células cancerígenas, mas é expresso em níveis mais baixos em células normais. Em uma modalidade, o método também compreende selecionar um CAR que se liga a X com uma afinidade que permite que o CAR X se ligue e mate as células cancerígenas expressando X, mas menos do que 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% ou menos das células normais expressando X são mortas, por exemplo, como determinado por um ensaio descrito aqui. Por exemplo, pode ser usado o ensaio descrito nas FIGURAS 13A e 13B ou um ensaio de morte tal como citometria de fluxo baseado em Cr51 CTL. Em uma modalidade, o CAR selecionado tem um domínio de ligação a antígenos que tem uma afinidade de ligação KD de 10^{-4} M até 10^{-8} M, por exemplo, 10^{-5} M até 10^{-7} M, por exemplo, 10^{-6} M ou 10^{-7} M, para o antígeno-alvo. Em uma modalidade, o domínio de ligação a antígenos selecionado tem uma afinidade de ligação que é pelo menos cinco vezes, 10 vezes, 20 vezes, 30 vezes, 50 vezes, 100 vezes ou 1 000 vezes menor do que a de um anticorpo de referência, por exemplo, um anticorpo descrito aqui.

[0738] Em uma modalidade, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem CAR CD19, em que as células cancerígenas expressam CD19. Em uma modalidade, o câncer

a ser tratado é ALL (leucemia linfoblástica aguda), CLL (leucemia linfocítica crônica), DLBCL (linfoma difuso de grandes células B), MCL (Linfoma de células do manto) ou MM (mieloma múltiplo).

[0739] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR EGFRvIII, em que as células cancerígenas expressam EGFRvIII. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é glioblastoma.

[0740] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR mesotelina, em que as células cancerígenas expressam mesotelina. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é mesotelioma, câncer pancreático ou câncer do ovário.

[0741] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD123, em que as células cancerígenas expressam CD123. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é AML.

[0742] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD22, em que as células cancerígenas expressam CD22. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado consiste em malignidades de células B.

[0743] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são

manipuladas para expressarem um CAR CS-1, em que as células cancerígenas expressam CS-1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é mieloma múltiplo.

[0744] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CLL-1, em que as células cancerígenas expressam CLL-1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é AML.

[0745] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD33, em que as células cancerígenas expressam CD33. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é AML.

[0746] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GD2, em que as células cancerígenas expressam GD2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é neuroblastoma.

[0747] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR BCMA, em que as células cancerígenas expressam BCMA. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é mieloma múltiplo.

[0748] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são

manipuladas para expressarem um CAR Tn, em que as células cancerígenas expressam o antígeno Tn. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do ovário.

[0749] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PSMA, em que as células cancerígenas expressam PSMA. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da próstata.

[0750] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR ROR1, em que as células cancerígenas expressam ROR1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado consiste em malignidades de células B.

[0751] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR FLT3, em que as células cancerígenas expressam FLT3. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é AML.

[0752] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR TAG72, em que as células cancerígenas expressam TAG72. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer gastrointestinal.

[0753] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são

manipuladas para expressarem um CAR CD38, em que as células cancerígenas expressam CD38. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é mieloma múltiplo.

[0754] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD44v6, em que as células cancerígenas expressam CD44v6. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer cervical, AML ou MM.

[0755] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CEA, em que as células cancerígenas expressam CEA. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer gastrointestinal ou câncer pancreático.

[0756] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR EPCAM, em que as células cancerígenas expressam EPCAM. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer gastrointestinal.

[0757] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR B7H3, em que as células cancerígenas expressam B7H3.

[0758] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR KIT, em que as células

cancerígenas expressam KIT. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer gastrointestinal.

[0759] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR IL-13Ra2, em que as células cancerígenas expressam IL-13Ra2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é glioblastoma.

[0760] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PRSS21, em que as células cancerígenas expressam PRSS21. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é selecionado de câncer do ovário, pancreático, do pulmão e mama.

[0761] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD30, em que as células cancerígenas expressam CD30. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado consiste em linfomas ou leucemias.

[0762] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GD3, em que as células cancerígenas expressam GD3. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma.

[0763] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são

manipuladas para expressarem um CAR CD171, em que as células cancerígenas expressam CD171. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é neuroblastoma, câncer do ovário, melanoma, câncer da mama, câncer pancreático, cânceres do cólon ou NSCLC (câncer do pulmão de células não pequenas).

[0764] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR IL-11Ra, em que as células cancerígenas expressam IL-11Ra. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é osteossarcoma.

[0765] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PSCA, em que as células cancerígenas expressam PSCA. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da próstata.

[0766] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR VEGFR2, em que as células cancerígenas expressam VEGFR2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é um tumor sólido.

[0767] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR LewisY, em que as células cancerígenas expressam LewisY. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do ovário ou AML.

[0768] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos

de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD24, em que as células cancerígenas expressam CD24. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer pancreático.

[0769] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PDGFR-beta, em que as células cancerígenas expressam PDGFR-beta. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da mama, câncer da próstata, GIST (tumor estromal gastrointestinal), CML, DFSP (dermatofibrossarcoma protuberante) ou glioma.

[0770] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR SSEA-4, em que as células cancerígenas expressam SSEA-4. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é glioblastoma, câncer da mama, câncer do pulmão ou câncer de células-tronco.

[0771] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD20, em que as células cancerígenas expressam CD20. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado consiste em malignidades de células B.

[0772] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Receptor de folato alfa, em que

as células cancerígenas expressam receptor de folato alfa. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do ovário, NSCLC, câncer endometrial, câncer renal ou outros tumores sólidos.

[0773] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR ERBB2, em que as células cancerígenas expressam ERBB2 (Her2/neu). Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da mama, câncer gástrico, câncer colorretal, câncer do pulmão ou outros tumores sólidos.

[0774] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR MUC1, em que as células cancerígenas expressam MUC1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da mama, câncer do pulmão ou outros tumores sólidos.

[0775] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR EGFR, em que as células cancerígenas expressam EGFR. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é glioblastoma, SCLC (câncer do pulmão de células pequenas), SCCHN (carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço), NSCLC ou outros tumores sólidos.

[0776] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR NCAM, em que as células cancerígenas expressam NCAM. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é neuroblastoma ou outros tumores sólidos.

[0777] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CAIX, em que as células cancerígenas expressam CAIX. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer renal, CRC, câncer cervical ou outros tumores sólidos.

[0778] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR EphA2, em que as células cancerígenas expressam EphA2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é GBM.

[0779] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GD3, em que as células cancerígenas expressam GD3. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma.

[0780] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Fucosil GM1, em que as células cancerígenas expressam Fucosil GM.

[0781] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR sLe, em que as células cancerígenas expressam sLe. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é NSCLC ou AML.

[0782] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GM3, em que as células cancerígenas expressam GM3.

[0783] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR TGS5, em que as células cancerígenas expressam TGS5.

[0784] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR HMWMAA, em que as células cancerígenas expressam HMWMAA. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma, glioblastoma ou câncer da mama.

[0785] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR o-acetil-GD2, em que as células cancerígenas expressam o-acetil-GD2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é neuroblastoma ou melanoma.

[0786] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD19, em que as células cancerígenas expressam CD19. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é AML que expressa Receptor de folato beta, mieloma.

[0787] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células

efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR TEM1/CD248, em que as células cancerígenas expressam TEM1/CD248. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é um tumor sólido.

[0788] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR TEM7R, em que as células cancerígenas expressam TEM7R. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é um tumor sólido.

[0789] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CLDN6, em que as células cancerígenas expressam CLDN6. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do ovário, câncer do pulmão ou câncer da mama.

[0790] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR TSHR, em que as células cancerígenas expressam TSHR. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da tireoide ou mieloma múltiplo.

[0791] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GPRC5D, em que as células cancerígenas expressam GPRC5D. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é mieloma múltiplo.

[0792] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células

efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CXORF61, em que as células cancerígenas expressam CXORF61.

[0793] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD97, em que as células cancerígenas expressam CD97. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado consiste em malignidades de células B, câncer gástrico, câncer pancreático, câncer esofágico, glioblastoma, câncer da mama ou câncer colorretal.

[0794] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD179a, em que as células cancerígenas expressam CD179a. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado consiste em malignidades de células B.

[0795] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR ALK, em que as células cancerígenas expressam ALK. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é NSCLC, ALCL (linfoma anaplásico de grandes células), IMT (tumor miofibroblástico inflamatório) ou neuroblastoma.

[0796] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Ácido polissiálico, em que as células cancerígenas expressam Ácido polissiálico. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do pulmão de células pequenas.

[0797] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PLAC1, em que as células cancerígenas expressam PLAC1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é HCC (carcinoma hepatocelular).

[0798] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GloboH, em que as células cancerígenas expressam GloboH. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do ovário, câncer gástrico, câncer da próstata, câncer do pulmão, câncer da mama ou câncer pancreático.

[0799] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR NY-BR-1, em que as células cancerígenas expressam NY-BR-1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da mama.

[0800] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR UPK2, em que as células cancerígenas expressam UPK2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da bexiga.

[0801] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR HAVCR1, em que as células

cancerígenas expressam HAVCR1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer renal.

[0802] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR ADRB3, em que as células cancerígenas expressam ADRB3. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é sarcoma de Ewing.

[0803] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PANX3, em que as células cancerígenas expressam PANX3. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é osteossarcoma.

[0804] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GPR20, em que as células cancerígenas expressam GPR20. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é GIST.

[0805] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR LY6K, em que as células cancerígenas expressam LY6K. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da mama, câncer do pulmão, câncer do ovário ou câncer do colo do útero.

[0806] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são

manipuladas para expressarem um CAR OR51E2, em que as células cancerígenas expressam OR51E2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da próstata.

[0807] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR TARP, em que as células cancerígenas expressam TARP. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da próstata.

[0808] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR WT1, em que as células cancerígenas expressam WT1.

[0809] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR NY-ESO-1, em que as células cancerígenas expressam NY-ESO-1.

[0810] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR LAGE-1a, em que as células cancerígenas expressam LAGE-1a.

[0811] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR MAGE-A1, em que as células cancerígenas expressam MAGE-A1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma.

[0812] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR MAGE A1, em que as células cancerígenas expressam MAGE A1.

[0813] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR ETV6-AML, em que as células cancerígenas expressam ETV6-AML.

[0814] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR proteína do esperma 17, em que as células cancerígenas expressam proteína do esperma 17. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do ovário, HCC ou NSCLC.

[0815] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR XAGE1, em que as células cancerígenas expressam XAGE1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer de Ewing ou rabdocâncer.

[0816] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Tie 2, em que as células cancerígenas expressam Tie 2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é um tumor sólido.

[0817] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos

de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR MAD-CT-1, em que as células cancerígenas expressam MAD-CT-1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da próstata ou melanoma.

[0818] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR MAD-CT-2, em que as células cancerígenas expressam MAD-CT-2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da próstata, melanoma.

[0819] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR antígeno relacionado com Fos 1, em que as células cancerígenas expressam antígeno relacionado com Fos 1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é glioma, câncer de células escamosas ou câncer pancreático.

[0820] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR p53, em que as células cancerígenas expressam p53.

[0821] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR prosteína, em que as células cancerígenas expressam prosteína.

[0822] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células

efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR survivina e telomerase, em que as células cancerígenas expressam survivina e telomerase.

[0823] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PCTA-1/Galectina 8, em que as células cancerígenas expressam PCTA-1/Galectina 8.

[0824] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR MelanA/MART1, em que as células cancerígenas expressam MelanA/MART1.

[0825] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Ras mutante, em que as células cancerígenas expressam Ras mutante.

[0826] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR p53 mutante, em que as células cancerígenas expressam p53 mutante.

[0827] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR hTERT, em que as células cancerígenas expressam hTERT.

[0828] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células

efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR pontos de quebra de translocação de sarcoma, em que as células cancerígenas expressam pontos de quebra de translocação de sarcoma. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é sarcoma.

[0829] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR ML-IAP, em que as células cancerígenas expressam ML-IAP. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma.

[0830] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR ERG, em que as células cancerígenas expressam ERG (gene de fusão TMPRSS2 ETS).

[0831] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR NA17, em que as células cancerígenas expressam NA17. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma.

[0832] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PAX3, em que as células cancerígenas expressam PAX3. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é rabdomiossarcoma alveolar.

[0833] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células

efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR receptor de andrógenos, em que as células cancerígenas expressam receptor de andrógenos. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da próstata metastático.

[0834] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Ciclina B1, em que as células cancerígenas expressam Ciclina B1.

[0835] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR MYCN, em que as células cancerígenas expressam MYCN.

[0836] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR RhoC, em que as células cancerígenas expressam RhoC.

[0837] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR TRP-2, em que as células cancerígenas expressam TRP-2. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma.

[0838] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CYP1B1, em que as células cancerígenas expressam CYP1B1. Em uma modalidade, o câncer a ser

tratado é câncer da mama, câncer do cólon, câncer do pulmão, câncer do esófago, câncer da pele, câncer de gânglios linfáticos, câncer do cérebro ou câncer do testículo.

[0839] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR BORIS, em que as células cancerígenas expressam BORIS. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer do pulmão.

[0840] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR SART3, em que as células cancerígenas expressam SART3.

[0841] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PAX5, em que as células cancerígenas expressam PAX5.

[0842] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR OY-TES1, em que as células cancerígenas expressam OY-TES1.

[0843] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR LCK, em que as células cancerígenas expressam LCK.

[0844] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos

de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR AKAP-4, em que as células cancerígenas expressam AKAP-4.

[0845] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR SSX2, em que as células cancerígenas expressam SSX2.

[0846] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR RAGE-1, em que as células cancerígenas expressam RAGE-1. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é RCC (câncer de células renais) ou outros tumores sólidos.

[0847] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR transcriptase reversa de telomerase humana, em que as células cancerígenas expressam transcriptase reversa de telomerase humana. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado consiste em tumores sólidos.

[0848] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR RU1, em que as células cancerígenas expressam RU1.

[0849] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são

manipuladas para expressarem um CAR RU2, em que as células cancerígenas expressam RU2.

[0850] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR carboxil-esterase intestinal, em que as células cancerígenas expressam carboxil-esterase intestinal. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é câncer da tireoide, RCC, CRC (câncer colorretal), câncer da mama ou outros tumores sólidos.

[0851] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Prostase, em que as células cancerígenas expressam Prostase.

[0852] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR PAP, em que as células cancerígenas expressam PAP.

[0853] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR receptor de IGF-I, em que as células cancerígenas expressam receptor de IGF-I.

[0854] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR gp100, em que as células cancerígenas expressam gp100.

[0855] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos

de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR bcr-abl, em que as células cancerígenas expressam bcr-abl.

[0856] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR tirosinase, em que as células cancerígenas expressam tirosinase.

[0857] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR Fucosil GM1, em que as células cancerígenas expressam Fucosil GM1.

[0858] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR hsp70-2 mut, em que as células cancerígenas expressam hsp70-2 mut. Em uma modalidade, o câncer a ser tratado é melanoma.

[0859] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD79a, em que as células cancerígenas expressam CD79a.

[0860] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD79b, em que as células cancerígenas expressam CD79b.

[0861] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD72, em que as células cancerígenas expressam CD72.

[0862] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR LAIR1, em que as células cancerígenas expressam LAIR1.

[0863] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR FCAR, em que as células cancerígenas expressam FCAR.

[0864] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR LILRA2, em que as células cancerígenas expressam LILRA2.

[0865] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CD300LF, em que as células cancerígenas expressam CD300LF.

[0866] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR CLEC12A, em que as células cancerígenas expressam CLEC12A.

[0867] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR BST2, em que as células cancerígenas expressam BST2.

[0868] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR EMR2, em que as células cancerígenas expressam EMR2.

[0869] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR LY75, em que as células cancerígenas expressam LY75.

[0870] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR GPC3, em que as células cancerígenas expressam GPC3.

[0871] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR FCRL5, em que as células cancerígenas expressam FCRL5.

[0872] Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de câncer proporcionando ao sujeito necessitado células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) que são manipuladas para expressarem um CAR IGLL1, em que as células cancerígenas expressam IGLL1.

[0873] Em um aspecto, a presente invenção se relaciona com o tratamento de um sujeito *in vivo* usando um CAR PD1 de modo que o crescimento de tumores cancerosos é inibido. Um CAR PD1 pode ser usado isoladamente para inibir o crescimento de tumores cancerosos. Alternativamente, CAR PD1 pode ser usado em conjunção com outros CARs, agentes imunogênicos, tratamentos padrão para câncer ou outros anticorpos. Em uma modalidade, o sujeito é tratado com um CAR PD1 e um CAR X descrito aqui. Em uma modalidade, um CAR PD1 é usado em conjunção com outro CAR, por exemplo, um CAR descrito aqui, e um inibidor de quinases, por exemplo, um inibidor de quinases descrito aqui.

[0874] Em outro aspecto, é proporcionado um método de tratamento de um sujeito, por exemplo, redução ou melhoria de uma condição ou distúrbio hiperproliferativo (por exemplo, um câncer), por exemplo, tumor sólido, um tumor de tecido mole ou uma lesão metastática em um sujeito. Como usado aqui, é pretendido que o termo "câncer" inclua todos os tipos de crescimentos cancerosos ou processos oncogênicos, tecidos metastáticos ou células, tecidos ou órgãos transformados de modo maligno, independentemente do tipo histopatológico ou estágio da invasão. Exemplos de tumores sólidos incluem malignidades, por exemplo, sarcomas, adenocarcinomas e carcinomas, dos vários sistemas de órgãos, tais como os que afetam o fígado, pulmão, mama, linfoide, gastrointestinal (por exemplo, cólon), trato genitourinário (por exemplo, células renais, uroteliais), próstata e faringe. Adenocarcinomas incluem malignidades tais como a maior parte dos cânceres do cólon, câncer retal, carcinoma de células renais, câncer do fígado, carcinoma do pulmão de células não pequenas, câncer do intestino delgado e câncer do esófago. Em uma modalidade, o câncer é um melanoma, por exemplo, um melanoma em estágio avançado. Lesões metastáticas dos cânceres acima mencionados

também podem ser tratadas ou prevenidas usando os métodos e composições da invenção. Exemplos de outros cânceres que podem ser tratados incluem câncer ósseo, câncer pancreático, câncer da pele, câncer da cabeça ou pescoço, melanoma maligno cutâneo ou intraocular, câncer uterino, câncer do ovário, câncer retal, câncer da região anal, câncer do estômago, câncer testicular, câncer uterino, carcinoma das trompas de Falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma do colo do útero, carcinoma da vagina, carcinoma da vulva, Doença de Hodgkin, linfoma de não Hodgkin, câncer do esófago, câncer do intestino delgado, câncer do sistema endócrino, câncer da glândula tireoide, câncer da glândula paratireoide, câncer da glândula adrenal, sarcoma de tecido mole, câncer da uretra, câncer do pênis, leucemias crônicas ou agudas incluindo leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crônica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crônica, tumores sólidos da infância, linfoma linfocítico, câncer da bexiga, câncer do rim ou ureter, carcinoma da pélvis renal, neoplasma do sistema nervoso central (SNC), linfoma primário do SNC, angiogênese tumoral, tumor do eixo espinhal, glioma do tronco cerebral, adenoma da pituitária, sarcoma de Kaposi, câncer epidermoide, câncer de células escamosas, linfoma de células T, cânceres induzidos pelo ambiente incluindo os induzidos por asbesto, e combinações dos referidos cânceres. O tratamento de cânceres metastáticos, por exemplo, cânceres metastáticos que expressam PD-L1 (Iwai *et al.* (2005) *Int. Immunol.* 17:133-144) pode ser efetuado usando as moléculas de anticorpos descritas aqui.

[0875] Cânceres exemplificativos cujo crescimento pode ser inibido incluem cânceres tipicamente responsivos a imunoterapia. Exemplos não limitadores de cânceres para tratamento incluem melanoma (por exemplo, melanoma maligno metastático), câncer renal (por exemplo, carcinoma de células claras), câncer da próstata (por exemplo,

adenocarcinoma da próstata refratário a hormônios), câncer da mama, câncer do cólon e câncer do pulmão (por exemplo, câncer do pulmão de células não pequenas). Adicionalmente, malignidades refratárias ou recorrentes podem ser tratadas usando as moléculas descritas aqui.

[0876] Em um aspecto, a invenção diz respeito a um vetor compreendendo um CAR operavelmente ligado a um promotor para expressão em células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) de mamífero. Em um aspecto, a invenção proporciona uma célula efetora imune recombinante expressando um CAR da presente invenção para uso no tratamento de câncer expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em um aspecto, células expressando um CAR da invenção são capazes de contatar uma célula tumoral com pelo menos um antígeno associado a câncer expresso na sua superfície, de modo que a célula expressando CAR visa a célula cancerígena e o crescimento do câncer é inibido.

[0877] Em um aspecto, a invenção diz respeito a um método de inibição do crescimento de um câncer, compreendendo contatar a célula cancerígena com uma célula expressando CAR da presente invenção de modo que o CART é ativado em resposta ao antígeno e visa a célula cancerígena, em que o crescimento do tumor é inibido.

[0878] Em um aspecto, a invenção diz respeito a um método de tratamento de câncer em um sujeito. O método compreende administrar ao sujeito uma célula expressando CAR da presente invenção de modo que o câncer é tratado no sujeito. Em um aspecto, o câncer associado a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui é um câncer hematológico. Em um aspecto, o câncer hematológico é uma leucemia ou um linfoma. Em um aspecto, um câncer associado a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui inclui cânceres e malignidades incluindo, mas não se limitando a, por exemplo, uma ou mais leucemias agudas incluindo, mas não se

limitando a, por exemplo, Leucemia Linfoide aguda de células B ("BALL"), Leucemia Linfoide aguda de células T ("TALL"), leucemia Linfoide aguda (ALL); uma ou mais leucemias crônicas, incluindo, mas não se limitando a, por exemplo, leucemia mielógena crônica (CML), Leucemia Linfoide Crônica (CLL). Cânceres ou afecções hematológicas adicionais associados a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui incluem, mas não se limitam a, por exemplo, leucemia pró-linfocítica de células B, neoplasma blástico de células dendríticas plasmacitoides, linfoma de Burkitt, linfoma difuso de grandes células B, Linfoma folicular, Leucemia de células pilosas, linfoma folicular de pequenas células ou grandes células, afecções linfoproliferativas malignas, linfoma MALT, linfoma de células do manto, Linfoma da zona marginal, mieloma múltiplo, mielodisplasia e síndrome mielodisplásica, linfoma de não Hodgkin, linfoma plasmablástico, neoplasma de células dendríticas plasmacitoides, macroglobulinemia de Waldenstrom e "pré-leucemia" que são um conjunto diversificado de afecções hematológicas unidas pela produção ineficaz (ou displasia) de células sanguíneas mieloides e similares. Outras doenças associadas a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui incluem, mas não se limitam a, por exemplo, cânceres atípicos e/ou não clássicos, malignidades, afecções pré-cancerosas ou doenças proliferativas associadas a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui.

[0879] Em algumas modalidades, um câncer que pode ser tratado com uma célula expressando CAR da presente invenção é mieloma múltiplo. Mieloma múltiplo é um câncer do sangue, caracterizado por acúmulo de um clone de célula plasmática na medula óssea. Terapias correntes para mieloma múltiplo incluem, mas não se limitam a, tratamento com lenalidomida, que é um análogo da talidomida. A lenalidomida tem atividades que incluem atividade antitumoral, inibição

da angiogênese e imunomodulação. Geralmente se crê que células de mieloma são negativas para expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui por citometria de fluxo. Assim, em algumas modalidades, um CAR CD19, por exemplo, como descrito aqui, pode ser usado para visar células de mieloma. Em algumas modalidades, terapia com CARs da presente invenção pode ser usada em combinação com uma ou mais terapias adicionais, por exemplo, tratamento com lenalidomida.

[0880] A invenção inclui um tipo de terapia celular no qual células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) são geneticamente modificadas para expressarem um receptor de antígenos quimérico (CAR) e a célula T ou célula NK expressando CAR é infundida em um recebedor necessitado. A célula infundida é capaz de matar células tumorais no recebedor. Ao contrário de terapias com anticorpos, células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) modificadas com CAR são capazes de se replicar *in vivo*, resultando em persistência de longa duração que pode conduzir a controle tumoral sustentado. Em vários aspectos, as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) administradas ao paciente, ou sua progênie, persistem no paciente durante pelo menos quatro meses, cinco meses, seis meses, sete meses, oito meses, nove meses, dez meses, onze meses, doze meses, treze meses, quatorze mês, quinze meses, dezesseis meses, dezessete meses, dezoito meses, dezenove meses, vinte meses, vinte e um meses, vinte e dois meses, vinte e três meses, dois anos, três anos, quatro anos ou cinco anos após a administração da célula T ou célula NK ao paciente.

[0881] A invenção também inclui um tipo de terapia celular no qual células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) são modificadas, por exemplo, por RNA transcrito *in vitro*, para expressarem de modo transiente um receptor de antígenos quimérico (CAR) e a

célula T ou célula NK CAR é infundida em um recebedor necessitado. A célula infundida é capaz de matar células tumorais no recebedor. Assim, em vários aspectos, as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) administradas ao paciente estão presentes durante menos de um mês, por exemplo, três semanas, duas semanas, uma semana, após a administração da célula T ou célula NK ao paciente.

[0882] Sem pretender ficar restringido por qualquer teoria particular, a resposta de imunidade antitumoral induzida pelas células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) modificadas com CAR pode ser uma resposta imune ativa ou passiva, ou alternativamente pode se dever a uma resposta imune direta *versus* indireta. Em um aspecto, as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) transduzidas com CAR exibem secreção de citocinas pró-inflamatórias específicas e atividade citolítica potente em resposta a células cancerígenas humanas expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui, resistem a inibição de um antígeno associado a câncer solúvel como descrito aqui, medeiam a morte de espectadores e medeiam a regressão de um tumor humano estabelecido. Por exemplo, células tumorais sem antígenos em um campo heterogêneo de um tumor expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui podem ser suscetíveis a destruição indireta por células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) redirecionadas para um antígeno associado a câncer como descrito aqui que reagiram previamente contra células cancerígenas positivas para antígenos adjacentes.

[0883] Em um aspecto, as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) modificadas com CAR totalmente humanas da invenção podem ser um tipo de vacina para imunização *ex vivo* e/ou terapia *in vivo* em um mamífero. Em um aspecto, o mamífero é um humano.

[0884] No que se refere a imunização *ex vivo*, pelo menos um dos seguintes ocorre *in vitro* antes da administração da célula a um mamífero: i) expansão das células, ii) introdução nas células de um ácido nucleico codificando um CAR ou iii) crioconservação das células.

[0885] Procedimentos *ex vivo* são bem conhecidos na técnica e são discutidos mais completamente abaixo. Em resumo, células são isoladas de um mamífero (por exemplo, um humano) e geneticamente modificadas (isto é, transduzidas ou transfectadas *in vitro*) com um vetor expressando um CAR revelado aqui. A célula modificada com CAR pode ser administrada a um recebedor mamífero para proporcionar um benefício terapêutico. O recebedor mamífero pode ser um humano e a célula modificada com CAR pode ser autóloga relativamente ao recebedor. Alternativamente, as células podem ser alogeneicas, singeneicas ou xenogeneicas relativamente ao recebedor.

[0886] O procedimento para expansão *ex vivo* de células-tronco hematopoiéticas e progenitoras é descrito na Pat. U.S. No. 5,199,942, incorporada aqui por referência, e pode ser aplicado às células da presente invenção. Outros métodos adequados são conhecidos na técnica, consequentemente a presente invenção não está limitada a qualquer método de expansão *ex vivo* particular das células. Em resumo, cultura e expansão *ex vivo* de células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) compreendem: (1) recolher células-tronco hematopoiéticas e progenitoras CD34+ de um mamífero a partir de recolha de sangue periférico ou explantes de medula óssea; e (2) expandir tais células *ex vivo*. Para além dos fatores de crescimento celular descritos na Pat. U.S. Nº. 5,199,942, outros fatores, tais como flt3-L, IL-1, IL-3 e ligante de c-kit, podem ser usados para a cultura e expansão das células.

[0887] Para além do uso de uma vacina à base de células em termos de imunização *ex vivo*, a presente invenção também proporciona

composições e métodos para imunização *in vivo* para induzir uma resposta imune dirigida contra um antígeno em um paciente.

[0888] Geralmente, as células ativadas e expandidas como descrito aqui podem ser utilizadas no tratamento e prevenção de doenças que surgem em indivíduos que estão imunocomprometidos. Em particular, as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) modificadas com CAR da invenção são usadas no tratamento de doenças, distúrbios e afecções associados a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em certos aspectos, as células da invenção são usadas no tratamento de pacientes em risco de desenvolver doenças, distúrbios e afecções associados à expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Assim, a presente invenção proporciona métodos para o tratamento ou prevenção de doenças, distúrbios e afecções associados a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui, compreendendo administrar a um sujeito necessitado uma quantidade terapeuticamente eficaz das células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) modificadas com CAR da invenção.

[0889] Em um aspecto, as células que expressam CAR das invenções podem ser usadas para tratar uma doença proliferativa, tal como um câncer ou malignidade, ou que é uma condição pré-cancerosa tal como uma mielodisplasia, uma síndrome mielodisplásica ou uma pré-leucemia. Além disso, uma doença associada a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui inclui, mas não se limita a, por exemplo, cânceres atípicos e/ou não clássicos, malignidades, afecções pré-cancerosas ou doenças proliferativas expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Indicações não relacionadas com câncer associadas à expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui incluem, mas não se limitam a, por exemplo, doença autoimune (por exemplo, lúpus), distúrbios inflamatórios (alergia e asma) e transplantação.

[0890] As células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) modificadas com CAR da presente invenção podem ser administradas isoladamente ou como uma composição farmacêutica em combinação com diluentes e/ou com outros componentes tais como IL-2 ou outras citocinas ou populações de células.

Câncer Hematológico

[0891] Afecções de cânceres hematológicos são os tipos de câncer tais como leucemia, linfoma e afecções linfoproliferativas malignas que afetam o sangue, medula óssea e o sistema linfático.

[0892] Leucemia pode ser classificada como leucemia aguda e leucemia crônica. Leucemia aguda pode ser adicionalmente classificada como leucemia mielógena aguda (AML) e leucemia linfoide aguda (ALL). Leucemia crônica inclui leucemia mielógena crônica (CML) e leucemia linfoide crônica (CLL). Outras afecções relacionadas incluem síndrome mielodisplásicas (MDS, anteriormente conhecidas como "pré-leucemia") que são um conjunto diversificado de afecções hematológicas unidas pela produção ineficaz (ou displasia) de células sanguíneas mieloides e risco de transformação em AML.

[0893] Linfoma é um grupo de tumores de células sanguíneas que se desenvolvem a partir de linfócitos. Linfomas exemplificativos incluem linfoma de não Hodgkin e linfoma de Hodgkin.

[0894] A presente invenção proporciona composições e métodos para o tratamento de câncer. Em um aspecto, o câncer é um câncer hematológico, incluindo, mas não se limitando a, o câncer hematológico é uma leucemia ou um linfoma. Em um aspecto, as células expressando CAR da invenção podem ser usadas para tratar cânceres e malignidades tais como, mas não se limitando a, por exemplo, leucemias agudas incluindo mas não se limitando a, por exemplo, leucemia linfoide aguda de células B ("BALL"), leucemia linfoide aguda de células T ("TALL"), leucemia linfoide aguda (ALL); uma ou mais

leucemias crônicas incluindo mas não se limitando a, por exemplo, leucemia mielógena crônica (CML), leucemia linfocítica crônica (CLL); cânceres hematológicos ou afecções hematológicas adicionais incluindo mas não se limitando a, por exemplo, leucemia pró-linfocítica de células B, neoplasma blástico de células dendríticas plasmacitoides, linfoma de Burkitt, linfoma difuso de grandes células B, Linfoma folicular, Leucemia de células pilosas, linfoma folicular de pequenas células ou grandes células, afecções linfoproliferativas malignas, linfoma MALT, linfoma de células do manto, Linfoma da zona marginal, mieloma múltiplo, mielodisplasia e síndrome mielodisplásica, linfoma de não Hodgkin, linfoma plasmablástico, neoplasma de células dendríticas plasmacitoides, macroglobulinemia de Waldenstrom e "pré-leucemia" que são um conjunto diversificado de afecções hematológicas unidas pela produção ineficaz (ou displasia) de células sanguíneas mieloides e similares. Além disso, uma doença associada a expressão de um antígeno associado a câncer como descrito aqui inclui mas não se limita a, por exemplo, cânceres atípicos e/ou não clássicos, malignidades, afecções pré-cancerosas ou doenças proliferativas expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui.

[0895] A presente invenção também proporciona métodos para inibir a proliferação ou reduzir uma população de células expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui, os métodos compreendendo contatar uma população de células compreendendo uma célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui com uma célula T ou célula NK expressando CAR da invenção que se liga à célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em um aspecto específico, a presente invenção proporciona métodos para inibir a proliferação ou reduzir a população de células cancerígenas expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui, os métodos compreendendo contatar uma

população de células cancerígenas expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui com uma célula T ou célula NK expressando CAR da invenção que se liga a uma célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em um aspecto, a presente invenção proporciona métodos para inibir a proliferação ou reduzir a população de células cancerígenas expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui, os métodos compreendendo contatar uma população de células cancerígenas expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui com uma célula T ou célula NK expressando CAR da invenção que se liga a uma célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em certos aspectos, uma célula T ou célula NK expressando CAR da invenção reduz a quantidade, número, quantia ou percentagem de células e/ou células cancerígenas em pelo menos 25%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 65%, pelo menos 75%, pelo menos 85%, pelo menos 95% ou pelo menos 99% em um sujeito com ou modelo animal para leucemia mieloide ou outro câncer associado a células expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui relativamente a um controle negativo. Em um aspecto, o sujeito é um humano.

[0896] A presente invenção também proporciona métodos para prevenir, tratar e/ou gerenciar uma doença associada a células expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui (por exemplo, um câncer hematológico ou câncer atípico expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui), os métodos compreendendo administrar a um sujeito necessitado uma célula T ou célula NK CAR da invenção que se liga a uma célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em um aspecto, o sujeito é um humano. Exemplos não limitadores de distúrbios associados a células expressando um antígeno associado a câncer

como descrito aqui incluem distúrbios autoimunes (tais como lúpus), distúrbios inflamatórios (tais como alergias e asma) e cânceres (tais como cânceres hematológicos ou cânceres atípicos expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui).

[0897] A presente invenção também proporciona métodos para prevenir, tratar e/ou gerenciar uma doença associada a células expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui, os métodos compreendendo administrar a um sujeito necessitado uma célula T ou célula NK CAR da invenção que se liga a uma célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em um aspecto, o sujeito é um humano.

[0898] A presente invenção proporciona métodos para prevenir a recidiva de câncer associado a células expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui, os métodos compreendendo administrar a um sujeito necessitado uma célula T ou célula NK CAR da invenção que se liga a uma célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui. Em um aspecto, os métodos compreendem administrar ao sujeito necessitado uma quantidade eficaz de uma célula T ou célula NK expressando CAR descrita aqui que se liga a uma célula expressando um antígeno associado a câncer como descrito aqui em combinação com uma quantidade eficaz de outra terapia.

Terapias de Combinação

[0899] Uma célula que expressa CAR descrita no presente documento pode ser usada em combinação com outros agentes e terapias conhecidos. Administrado "em combinação", como usado aqui, significa que dois (ou mais) tratamentos diferentes são administrados ao sujeito durante a aflição do sujeito com o distúrbio, por exemplo, os dois ou mais tratamentos são administrados depois de o sujeito ter sido diagnosticado com o distúrbio e antes de o distúrbio ter sido curado ou

eliminado ou o tratamento ter cessado por outros motivos. Em algumas modalidades, a administração de um tratamento ainda está ocorrendo quando a administração do segundo começa, de modo que ocorre sobreposição em termos da administração. Tal é por vezes referido aqui como "administração simultânea" ou "concorrente". Em outras modalidades, a administração de um tratamento termina antes de a administração do outro tratamento começar. Em algumas modalidades de qualquer um dos casos, o tratamento é mais eficaz devido à administração combinada. Por exemplo, o segundo tratamento é mais eficaz, por exemplo, é observado um efeito equivalente com menos do segundo tratamento, ou o segundo tratamento reduz sintomas em maior extensão, do que seria observado se o segundo tratamento fosse administrado na ausência do primeiro tratamento, ou a situação análoga é observada com o primeiro tratamento. Em algumas modalidades, a administração é tal que a redução em um sintoma, ou outro parâmetro relacionado com o distúrbio, é maior do que seria observado com um tratamento administrado na ausência do outro. O efeito dos dois tratamentos pode ser parcialmente aditivo, totalmente aditivo ou mais do que aditivo. A administração pode ser tal que um efeito do primeiro tratamento administrado ainda é detectável quando o segundo é administrado.

[0900] Uma célula expressando CAR descrita aqui e o pelo menos um agente terapêutico adicional podem ser administrados simultaneamente, na mesma composição ou em composições separadas ou sequencialmente. Para administração sequencial, a célula expressando CAR descrita aqui pode ser administrada em primeiro lugar, e o agente adicional pode ser administrado em segundo lugar, ou a ordem da administração pode ser invertida.

[0901] A terapia com CAR e/ou outros agentes, procedimentos ou modalidades terapêuticos podem ser administrados durante períodos

de disfunção ativa ou durante um período de remissão ou doença menos ativa. A terapia com CAR pode ser administrada antes do outro tratamento, em simultâneo com o tratamento, pós-tratamento ou durante remissão da disfunção.

[0902] Quando administrados em combinação, a terapia com CAR e o agente adicional (por exemplo, segundo ou terceiro agente) ou todos, podem ser administrados em uma quantidade ou dose que é maior, menor ou igual à quantidade ou dosagem de cada agente usado individualmente, por exemplo, como uma monoterapia. Em certas modalidades, a quantidade ou dosagem administrada da terapia com CAR, do agente adicional (por exemplo, segundo ou terceiro agente), ou todos, é menor (por exemplo, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40% ou pelo menos 50%) do que a quantidade ou dosagem de cada agente usado individualmente, por exemplo, como uma monoterapia. Em outras modalidades, a quantidade ou dosagem da terapia com CAR, do agente adicional (por exemplo, segundo ou terceiro agente) ou todos, que resulta em um efeito desejado (por exemplo, tratamento de câncer) é menor (por exemplo, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40% ou pelo menos 50% menor) do que a quantidade ou dosagem de cada agente usado individualmente, por exemplo, como uma monoterapia, requerida para alcançar o mesmo efeito terapêutico.

[0903] Em aspectos adicionais, uma célula expressando CAR descrita aqui pode ser usada em um regime de tratamento em combinação com cirurgia, quimioterapia, radiação, agentes imunossupressores tais como ciclosporina, azatioprina, metotrexato, micofenolato e FK506, anticorpos, ou outros agentes imunoablativos como CAMPATH, anticorpos anti-CD3 ou outras terapias com anticorpos, citoxina, fludarabina, ciclosporina, FK506, rapamicina, ácido micofenólico, esteroides, FR901228, citocinas e irradiação, vacina de

peptídeo, como a descrita em Izumoto *et al.* 2008 *J Neurosurg* 108:963-971.

[0904] Em uma modalidade, uma célula expressando CAR descrita aqui pode ser usada em combinação com um agente quimioterapêutico. Agentes quimioterapêuticos exemplificativos incluem uma antraciclina (por exemplo, doxorrubicina (por exemplo, doxorrubicina lipossômica)), um alcaloide de vinca (por exemplo, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina), um agente alquilante (por exemplo, ciclofosfamida, dacarbazina, melfalano, ifosfamida, temozolomida), um anticorpo para células imunes (por exemplo, alemtuzamab, gemtuzumab, rituximab, ofatumumab, tositumomab, brentuximab), um antimetabólito (incluindo, por exemplo, antagonistas do ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inibidores de adenosina desaminase (por exemplo, fludarabina)), um inibidor de mTOR, um agonista da proteína relacionada com o TNFR induzida por glucocorticoides (GITR) TNFR, um inibidor de proteassomos (por exemplo, aclacinomicina A, gliotoxina ou bortezomib), um imunomodulador tal como talidomida ou um derivado de talidomida (por exemplo, lenalidomida).

[0905] Agentes quimioterapêuticos gerais considerados para uso em terapias de combinação incluem anastrozol (Arimidex®), bicalutamida (Casodex®), sulfato de bleomicina (Blenoxane®), bussulfano (Myleran®), injeção de bussulfano (Busulfex®), capecitabina (Xeloda®), N4-pentoxicarbonil-5-desóxi-5-fluorocitidina, carboplatina (Paraplatin®), carmustina (BiCNU®), clorambucil (Leukeran®), cisplatina (Platinol®), cladribina (Leustatin®), ciclofosfamida (Cytoxan® ou Neosar®), citarabina, citosina arabinosídeo (Cytosar-U®), injeção de lipossomo de citarabina (DepoCyt®), dacarbazina (DTIC-Dome®), dactinomicina (Actinomicina D, Cosmegan), hidrocloreto de daunorrubicina (Cerubidine®), injeção de lipossomo de citrato de daunorrubicina (DaunoXome®), dexametasona, docetaxel (Taxotere®),

hidrocloreto de doxorrubicina (Adriamycin®, Rubex®), etoposida (Vepesid®), fosfato de fludarabina (Fludara®), 5-fluorouracila (Adrucil®, Efudex®), flutamida (Eulexin®), tezacitibina, Gemcitabina (difluorodesoxicitidina), hidroxiureia (Hydrea®), Idarrubicina (Idamycin®), ifosfamida (IFEX®), irinotecano (Camptosar®), L-asparaginase (ELSPAR®), leucovorina cálcica, melfalano (Alkeran®), 6-mercaptopurina (Purinethol®), metotrexato (Folex®), mitoxantrona (Novantrone®), milotarg, paclitaxel (Taxol®), fênix (Ítrio90/MX-DTPA), pentostatina, polifeprosano 20 com implante de carmustina (Gliadel®), citrato de tamoxifeno (Nolvadex®), teniposida (Vumon®), 6-tioguanina, tiotepa, tirapazamina (Tirazone®), hidrocloreto de topotecano para injeção (Hycamptin®), vinblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®) e vinorrelbina (Navelbine®).

[0906] Agentes alquilantes exemplificativo incluem, sem limitação, mostardas de nitrogênio, derivados etilenimina, alquilsulfonatos, nitrosoureias e triazenos: mostarda de uracila (Aminouracil Mustard®, Chlorethaminacil®, Demethyldopan®, Desmethyldopan®, Haemanthamina®, Nordopan®, Uracil nitrogen mustard®, Uracillost®, Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®), clormetino (Mustargen®), ciclofosfamida (Cytoxan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune™), ifosfamida (Mitoxana®), melfalano (Alkeran®), Clorambucil (Leukeran®), pipobromano (Amedel®, Vercyte®), trietilenomelamina (Hemel®, Hexalen®, Hexastat®), trietilenotiofosforamina, Temozolomida (Temodar®), tiotepa (Thioplex®), bussulfano (Busilvex®, Myleran®), carmustina (BiCNU®), lomustina (CeeNU®), estreptozocina (Zanosar®) e Dacarbazina (DTIC-Dome®). Agentes alquilantes exemplificativos adicionais incluem, sem limitação, Oxaliplatina (Eloxatin®); Temozolomida (Temodar® e Temodal®); Dactinomicina (também conhecido como actinomicina-D, Cosmegen®); Melfalano (também conhecido como L-PAM, L-sarcolisina, e mostarda

de fenilalanina, Alkeran®); Altretamina (também conhecido como hexametilmelamina (HMM), Hexalen®); Carmustina (BiCNU®); Bendamustina (Treanda®); Bussulfano (Busulfex® e Myleran®); Carboplatina (Paraplatin®); Lomustina (também conhecido como CCNU, CeeNU®); Cisplatina (também conhecido como CDDP, Platinol® e Platinol®-AQ); Clorambucil (Leukeran®); Ciclofosfamida (Cytoxan® e Neosar®); Dacarbazina (também conhecido como DTIC, DIC e imidazolcarboxamida, DTIC-Dome®); Altretamina (também conhecido como hexametilmelamina (HMM), Hexalen®); Ifosfamida (Ifex®); Prednumustina; Procarbazina (Matulane®); Mecloretamina (também conhecido como mostarda de nitrogênio, mustina e cloridrato de mecloroetamina, Mustargen®); Estreptozocina (Zanosar®); Tiotepa (também conhecido como tiofosfoamida, TESPA e TSPA, Thioplex®); Ciclofosfamida (Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune®); e Bendamustina HCl (Treanda®).

[0907] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com fludarabina, ciclofosfamida e/ou rituximab. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com fludarabina, ciclofosfamida e rituximab (FCR). Em modalidades, o sujeito tem CLL. Por exemplo, o sujeito tem uma deleção no braço curto do cromossomo 17 (del(17p), por exemplo, em uma célula leucêmica). Em outros exemplos, o sujeito não tem uma del(17p). Em modalidades, o sujeito compreende uma célula leucêmica compreendendo uma mutação no gene da região variável de cadeia pesada de imunoglobulina (IgV_H). Em outras modalidades, o sujeito não compreende uma célula leucêmica compreendendo uma mutação no gene da região variável de cadeia pesada de imunoglobulina (IgV_H). Em modalidades, a fludarabina é administrada a uma dosagem de cerca de 10-50 mg/m^2 (por exemplo, cerca de 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35,

35-40, 40-45 ou 45-50 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente. Em modalidades, a ciclofosfamida é administrada a uma dosagem de cerca de 200-300 mg/m^2 (por exemplo, cerca de 200-225, 225-250, 250-275 ou 275-300 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente. Em modalidades, o rituximab é administrado a uma dosagem de cerca de 400-600 mg/m^2 (por exemplo, 400-450, 450-500, 500-550 ou 550-600 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente.

[0908] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com bendamustina e rituximab. Em modalidades, o sujeito tem CLL. Por exemplo, o sujeito tem uma deleção no braço curto do cromossomo 17 (del(17p), por exemplo, em uma célula leucêmica). Em outros exemplos, o sujeito não tem uma del(17p). Em modalidades, o sujeito compreende uma célula leucêmica compreendendo uma mutação no gene da região variável de cadeia pesada de imunoglobulina (*IgV$_H$*). Em outras modalidades, o sujeito não compreende uma célula leucêmica compreendendo uma mutação no gene da região variável de cadeia pesada de imunoglobulina (*IgV$_H$*). Em modalidades, a bendamustina é administrada a uma dosagem de cerca de 70-110 mg/m^2 (por exemplo, 70-80, 80-90, 90-100 ou 100-110 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente. Em modalidades, o rituximab é administrado a uma dosagem de cerca de 400-600 mg/m^2 (por exemplo, 400-450, 450-500, 500-550 ou 550-600 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente.

[0909] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com rituximab, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e/ou um corticosteroide (por exemplo, prednisona). Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com rituximab, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona (R-CHOP). Em modalidades, o sujeito tem linfoma difuso de grandes células B

(DLBCL). Em modalidades, o sujeito tem DLBCL não volumoso em estágio limitado (por exemplo, compreende um tumor tendo um tamanho/diâmetro menor do que 7 cm). Em modalidades, o sujeito é tratado com radiação em combinação com R-CHOP. Por exemplo, ao sujeito é administrado R-CHOP (por exemplo, 1-6 ciclos, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ciclos de R-CHOP), seguido de radiação. Em alguns casos, ao sujeito é administrado R-CHOP (por exemplo, 1-6 ciclos, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 ciclos de R-CHOP) após radiação.

[0910] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com etoposida, prednisona, vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina e/ou rituximab. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com etoposida, prednisona, vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina e rituximab (EPOCH-R). Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com EPOCH-R com dose ajustada (DA-EPOCH-R). Em modalidades, o sujeito tem um linfoma de células B, por exemplo, um linfoma de células B agressivo com Myc rearranjado.

[0911] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com rituximab e/ou lenalidomida. Lenalidomida ((*RS*)-3-(4-Amino-1-oxo 1,3-di-hidro-2*H*-isoindol- 2-il)piperidino-2,6-diona) é um imunomodulador. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com rituximab e lenalidomida. Em modalidades, o sujeito tem linfoma folicular (FL) ou linfoma de células do manto (MCL). Em modalidades, o sujeito tem FL e não foi previamente tratado com uma terapia para câncer. Em modalidades, lenalidomida é administrada a uma dosagem de cerca de 10-20 mg (por exemplo, 10-15 ou 15-20 mg), por exemplo, diariamente. Em

modalidades, rituximab é administrado a uma dosagem de cerca de 350-550 mg/m^2 (por exemplo, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475 ou 475-500 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente.

[0912] Inibidores de mTOR exemplificativos incluem, por exemplo, temsirolimus; ridaforolimus (formalmente conhecido como deferolimus (dimetilfosfinato de 1*R*,2*R*,4*S*)-4-[(2*R*)-2 [(1*R*,9*S*,12*S*,15*R*,16*E*,18*R*,19*R*,21*R*, 23*S*,24*E*,26*E*,28*Z*,30*S*,32*S*,35*R*)-1,18-di-hidróxi-19,30-dimetóxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-2,3,10,14,20-pentaoxo-11,36-dioxa-4-azatriciclo[30.3.1.0^{4,9}]hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-12-il]propil]-2-metoxiciclo-hexila, também conhecido como AP23573 e MK8669, e descrito na Publicação PCT No. WO 03/064383); everolimus (Afinitor® ou RAD001); rapamicina (AY22989, Sirolimus®); simapimod (CAS 164301-51-3); emsirolimus (5-{2,4-Bis[(3*S*)-3-metilmorfolin-4-il]pirido[2,3-*d*]pirimidin-7-il}-2-metoxifenil)metanol (AZD8055); 2-Amino-8-[*trans*-4-(2-hidroxietóxi)ciclo-hexil]-6-(6-metóxi-3-piridinil)-4-metil-pirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-ona (PF04691502, CAS 1013101-36-4) e *N*^{2}-[1,4-dioxo-4-[[4-(4-oxo-8-fenil-4*H*-1-benzopiran-2-il)morfolínio-4-il]metóxi]butil]-L-arginilglicil-L-α-aspartil-L-serina, sal interno (SF1126, CAS 936487-67-1) (SEQ ID Nº: 1262), e XL765.

[0913] Exemplos de imunomoduladores incluem, por exemplo, afutuzumab (comercializado pela Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimida (CC4047); e IRX-2 (mistura de citocinas humanas incluindo interleucina 1, interleucina 2 e interferon γ, CAS 951209-71-5, comercializado pela IRX Therapeutics).

[0914] Exemplos de antraciclinas incluem, por exemplo, doxorrubicina (Adriamycin® e Rubex®); bleomicina (lenoxane®); daunorrubicina (cloridrato de daunorrubicina, daunomicina e cloridrato de rubidomicina, Cerubidine®); daunorrubicina lipossômica (lipossomo de citrato de daunorrubicina, DaunoXome®); mitoxantrona (DHAD,

Novantrone®); epirrubicina (Ellence™); idarrubicina (Idamycin®, Idamycin PFS®); mitomicina C (Mutamycin®); geldanamicina; herbimicina; ravidomicina; e desacetilravidomicina.

[0915] Exemplos de alcaloides da vinca incluem, por exemplo, tartarato de vinorelbina (Navelbine®), Vincristina (Oncovin®) e Vindesina (Eldisine®); vinblastina (também conhecida como sulfato de vinblastina, vincaleucoblastina e VLB, Alkaban-AQ® e Velban®); e vinorelbina (Navelbine®).

[0916] Exemplos de inibidores de proteossomos incluem bortezomib (Velcade®); carfilzomib (PX-171-007, (*S*)-4-Metil-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-4-metil-1-((*R*)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopentan-2-il)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)-2-((*S*)-2-(2-morfolinoacetamido)-4-fenilbutanamido)-pentanamida); marizomib (NPI-0052); citrato de ixazomib (MLN-9708); delanzomib (CEP-18770); e *O*-Metil-*N*-[(2-metil-5-tiazolil)carbonil]-L-seril-*O*-metil-*N*-[(1*S*)-2-[(2*R*)-2-metil-2-oxiranil]-2-oxo-1-(fenilmetil)etil]-L-serinamida (ONX-0912).

[0917] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com brentuximab. Brentuximab é um conjugado de anticorpo e fármaco de anticorpo anti-CD30 e monometilauristatina E. Em modalidades, o sujeito tem linfoma de Hodgkin (HL), por exemplo, HL recidivado ou refratário. Em modalidades, o sujeito compreende HL CD30+. Em modalidades, o sujeito foi submetido a um transplante de células-tronco autólogas (ASCT). Em modalidades, o sujeito não foi submetido a um ASCT. Em modalidades, brentuximab é administrado a uma dosagem de cerca de 1-3 mg/kg (por exemplo, cerca de 1-1,5, 1,5-2, 2-2,5 ou 2,5-3 mg/kg), por exemplo, por via intravenosa, por exemplo, a cada 3 semanas.

[0918] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com brentuximab e dacarbazina ou em combinação com brentuximab e bendamustina.

Dacarbazina é um agente alquilante com o nome químico de 5-(3,3-Dimetil-1-triazenil)imidazol-4-carboxamida. Bendamustina é um agente alquilante com o nome químico de ácido 4-[5-[Bis(2-cloroetil)amino]-1-metilbenzimidazol-2-il]butanoico. Em modalidades, o sujeito tem linfoma de Hodgkin (HL). Em modalidades, o sujeito não foi previamente tratado com uma terapia para câncer. Em modalidades, o sujeito tem pelo menos 60 anos de idade, por exemplo, 60, 65, 70, 75, 80, 85 ou mais anos de idade. Em modalidades, dacarbazina é administrada a uma dosagem de cerca de 300-450 mg/m^2 (por exemplo, cerca de 300-325, 325-350, 350-375, 375-400, 400-425 ou 425-450 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente. Em modalidades, bendamustina é administrada a uma dosagem de cerca de 75-125 mg/m^2 (por exemplo, 75-100 ou 100-125 mg/m^2, por exemplo, cerca de 90 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente. Em modalidades, brentuximab é administrado a uma dosagem de cerca de 1-3 mg/kg (por exemplo, cerca de 1-1,5, 1,5-2, 2-2,5 ou 2,5-3 mg/kg), por exemplo, por via intravenosa, por exemplo, a cada 3 semanas.

[0919] Em algumas modalidades, uma célula expressando CAR aqui descrita é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de CD20, por exemplo, um anticorpo anti-CD20 (por exemplo, anticorpo anti-CD20 mono- ou biespecífico) ou um seu fragmento. Exemplos de anticorpos anti-CD20 incluem, mas não se limitam a, rituximab, ofatumumab, ocrelizumab, veltuzumab, obinutuzumab, TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals), ocaratuzumab e Pro131921 (Genentech). Ver, por exemplo, Lim *et al. Haematologica.* 95.1(2010):135-43.

[0920] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD20 compreende rituximab. Rituximab é um anticorpo monoclonal quimérico camundongo/humano IgG1 capa que se liga a CD20 e provoca citólise de uma célula expressando CD20, por exemplo, como descrito em www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/103705s5311lbl.

pdf. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com rituximab. Em modalidades, o sujeito tem CLL ou SLL.

[0921] Em algumas modalidades, rituximab é administrado de forma intravenosa, por exemplo, como infusão intravenosa. Por exemplo, cada infusão proporciona cerca de 500-2000 mg (por exemplo, cerca de 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 800-850, 850-900, 900-950, 950-1000, 1000-1100, 1100-1200, 1200-1300, 1300-1400, 1400-1500, 1500-1600, 1600-1700, 1700-1800, 1800-1900, ou 1900-2000 mg) de rituximab. Em algumas modalidades, rituximab é administrado a uma dose de 150 mg/m^2 a 750 mg/m^2, por exemplo, cerca de 150-175 mg/m^2, 175-200 mg/m^2, 200-225 mg/m^2, 225-250 mg/m^2, 250-300 mg/m^2, 300-325 mg/m^2, 325-350 mg/m^2, 350-375 mg/m^2, 375-400 mg/m^2, 400-425 mg/m^2, 425-450 mg/m^2, 450-475 mg/m^2, 475-500 mg/m^2, 500-525 mg/m^2, 525-550 mg/m^2, 550-575 mg/m^2, 575-600 mg/m^2, 600-625 mg/m^2, 625-650 mg/m^2, 650-675 mg/m^2 ou 675-700 mg/m^2, onde m^2 indica a área de superfície corporal do sujeito. Em algumas modalidades, rituximab é administrado com um intervalo de dosagens de pelo menos 4 dias, por exemplo, 4, 7, 14, 21, 28, 35 dias ou mais. Por exemplo, rituximab é administrado com um intervalo de dosagens de pelo menos 0,5 semanas, por exemplo, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 semanas ou mais. Em algumas modalidades, rituximab é administrado a uma dose e com um intervalo de dosagens descrito aqui durante um período de tempo, por exemplo, pelo menos 2 semanas, por exemplo, pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 semanas ou maior. Por exemplo, rituximab é administrado a uma dose e com um intervalo de dosagens descrito aqui durante um total de pelo menos 4 doses por ciclo de tratamento (por exemplo, pelo menos 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 ou mais doses por ciclo de tratamento).

[0922] Em algumas modalidades, o anticorpo anti-CD20 compreende ofatumumab. Ofatumumab é um anticorpo monoclonal humano IgG1κ anti-CD20 com um peso molecular de aproximadamente 149 kDa. Por exemplo, ofatumumab é gerado usando camundongo transgênico e tecnologia de hibridoma e é expresso e purificado a partir de uma linhagem de células murinas recombinantes (NS0). Ver, por exemplo, www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/125326lbl.pdf; e Identificador do Ensaio Clínico número NCT01363128, NCT01515176, NCT01626352 e NCT01397591. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com ofatumumab. Em modalidades, o sujeito tem CLL ou SLL.

[0923] Em algumas modalidades, ofatumumab é administrado como infusão intravenosa. Por exemplo, cada infusão proporciona cerca de 150-3000 mg (por exemplo, cerca de 150-200, 200-250, 250-300, 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550, 550-600, 600-650, 650-700, 700-750, 750-800, 800-850, 850-900, 900-950, 950-1000, 1000-1200, 1200-1400, 1400-1600, 1600-1800, 1800-2000, 2000-2200, 2200-2400, 2400-2600, 2600-2800, ou 2800-3000 mg) de ofatumumab. Em modalidades, ofatumumab é administrado a uma dosagem de partida de cerca de 300 mg, seguido de 2000 mg, por exemplo, durante cerca de 11 doses, por exemplo, durante 24 semanas. Em algumas modalidades, ofatumumab é administrado com um intervalo de dosagens de pelo menos 4 dias, por exemplo, 4, 7, 14, 21, 28, 35 dias ou mais. Por exemplo, ofatumumab é administrado com um intervalo de dosagens de pelo menos 1 semana, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 26, 28, 20, 22, 24, 26, 28, 30 semanas ou mais. Em algumas modalidades, ofatumumab é administrado a uma dose e com um intervalo de dosagens descrito aqui durante um período de tempo,

por exemplo, pelo menos uma semana, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 40, 50, 60 semanas ou maior, ou 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses ou maior, ou 1, 2, 3, 4, 5 anos ou maior. Por exemplo, ofatumumab é administrado a uma dose e com um intervalo de dosagens descrito aqui durante um total de pelo menos duas doses por ciclo de tratamento (por exemplo, pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20 ou mais doses por ciclo de tratamento).

[0924] Em alguns casos, o anticorpo anti-CD20 compreende ocrelizumab. Ocrelizumab é um anticorpo monoclonal anti-CD20 humanizado, por exemplo, como descrito nos Identificadores dos Ensaios Clínicos Nos. NCT00077870, NCT01412333, NCT00779220, NCT00673920, NCT01194570 e Kappos *et al. Lancet*. 19.378(2011):1779-87.

[0925] Em alguns casos, o anticorpo anti-CD20 compreende veltuzumab. Veltuzumab é um anticorpo monoclonal humanizado contra CD20. Ver, por exemplo, Identificador do Ensaio Clínico No. NCT00547066, NCT00546793, NCT01101581 e Goldenberg *et al. Leuk Lymphoma*. 51(5)(2010):747-55.

[0926] Em alguns casos, o anticorpo anti-CD20 compreende GA101. GA101 (também denominado obinutuzumab ou RO5072759) é um anticorpo monoclonal anti-CD20 humanizado e glico-manipulado. Ver, por exemplo, Robak. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 10.6(2009):588-96; Identificadores de Ensaios Clínicos Nºs: NCT01995669, NCT01889797, NCT02229422 e NCT01414205; e www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125486s000lbl.pdf.

[0927] Em alguns casos, o anticorpo anti-CD20 compreende AME-133v. AME-133v (também chamado LY2469298 ou ocaratuzumab) é um anticorpo monoclonal IgG1 humanizado contra CD20 com afinidade intensificada para o receptor FcγRIIIa e uma atividade aumentada de citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) em

comparação com rituximab. Ver, por exemplo, Robak *et al. BioDrugs* 25.1(2011):13-25; e Forero-Torres *et al. Clin Cancer Res.* 18.5(2012):1395-403.

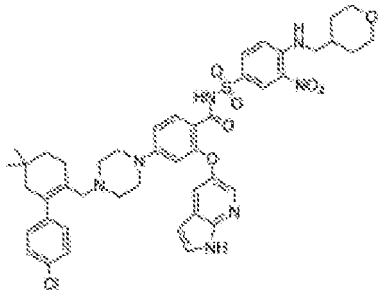
[0928] Em alguns casos, o anticorpo anti-CD20 compreende PRO131921. PRO131921é um anticorpo monoclonal anti-CD20 humanizado manipulado para ter melhor ligação a FcγRIIIa e ADCC intensificada em comparação com rituximab. Ver, por exemplo, Robak *et al. BioDrugs* 25.1(2011):13-25; e Casulo *et al. Clin Immunol.* 154.1(2014):37-46; e Identificador de Ensaios Clínicos Nº NCT00452127.

[0929] Em alguns casos, o anticorpo anti-CD20 compreende TRU-015. TRU-015 é uma proteína de fusão anti-CD20 derivada de domínios de um anticorpo contra CD20. TRU-015 é menor do que anticorpos monoclonais, mas retém funções efetoras mediadas por Fc. Ver, por exemplo, Robak *et al. BioDrugs* 25.1(2011):13-25. TRU-015 contém um fragmento variável de cadeia simples (scFv) anti-CD20 ligado a domínios de dobradiça de IgG1 humana, CH2 e CH3 mas não tem os domínios CH1 e CL.

[0930] Em algumas modalidades, um anticorpo anti-CD20 aqui descrito é conjugado ou ligado de outra forma a um agente terapêutico, por exemplo, um agente quimioterapêutico (por exemplo, citoxano, fludarabina, inibidor de histona desacetilase, agente de desmetilação, vacina de peptídeo, antibiótico antitumoral, inibição de tirosina quinase, agente alquilante, agente antimicrotúbulos ou antimitótico), agente antialérgico, agente antináusea (ou antiemético), analgésico ou agente citoprotetor aqui descrito.

[0931] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de linfoma de células B 2 (BCL-2) (por exemplo, venetoclax, também denominado ABT-199 ou GDC-0199) e/ou rituximab. Em modalidades, uma célula

expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com venetoclax e rituximab. Venetoclax é uma molécula pequena que inibe a proteína antiapoptótica BCL-2. A estrutura do venetoclax (4-(4-{[2-(4-clorofenil)-4,4-dimetilciclo-hex-1-en-1-il]metil} piperazin-1-il)-*N*-({3-nitro-4-[(tetra-hidro-2*H*-piran-4-ilmetil)amino]fenil} sulfonil)-2-(1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-ilóxi)benzamida) é mostrada abaixo.



[0932] Em modalidades, o sujeito tem CLL. Em modalidades, o sujeito tem CLL recidivado, por exemplo, o sujeito recebeu previamente terapia contra o câncer. Em modalidades, venetoclax é administrado a uma dosagem de cerca de 15-600 mg (por exemplo, 15-20, 20-50, 50-75, 75-100, 100-200, 200-300, 300-400, 400-500 ou 500-600 mg), por exemplo, diariamente. Em modalidades, rituximab é administrado a uma dosagem de cerca de 350-550 mg/m^2 (por exemplo, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475 ou 475-500 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente, por exemplo, mensalmente.

[0933] Em uma modalidade, células expressando um CAR aqui descrito são administradas a um sujeito em combinação com uma molécula que diminui a população de células Treg. Métodos que diminuem o número de (por exemplo, esgotam) células Treg são conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, depleção de CD25, administração de ciclofosfamida, modulação da função de GITR. Sem querer estar limitados pela teoria, acredita-se que reduzir o número de células Treg em um sujeito antes de aférese ou antes da administração de uma célula expressando CAR aqui descrita reduz o número de

células imunes indesejadas (por exemplo, Tregs) no microambiente tumoral e reduz o risco de recaída do sujeito. Em uma modalidade, células expressando um CAR descrito aqui são administradas a um sujeito em combinação com uma molécula visando GITR e/ou modulando funções de GITR, tal como um agonista de GITR e/ou um anticorpo para GITR que procede à depleção de células T reguladoras (Tregs). Em modalidades, células expressando um CAR descrito aqui são administradas a um sujeito em combinação com ciclofosfamida. Em uma modalidade, as moléculas de ligação a GITR e/ou moléculas modulando funções de GITR (por exemplo, agonista de GITR e/ou anticorpos para GITR que procedem à depleção de Treg) são administradas antes da administração da célula expressando CAR. Por exemplo, em uma modalidade, o agonista de GITR pode ser administrado antes de aférese das células. Em modalidades, ciclofosfamida é administrada a o sujeito antes da administração (por exemplo, infusão ou reinfusão) da célula expressando CAR ou antes de aférese das células. Em modalidades, ciclofosfamida e um anticorpo anti-GITR são administrados ao sujeito antes da administração (por exemplo, infusão ou reinfusão) da célula expressando CAR ou antes de aférese das células. Em uma modalidade, o sujeito tem câncer (por exemplo, um câncer sólido ou um câncer hematológico tal como ALL ou CLL). Em uma modalidade, o sujeito tem CLL. Em modalidades, o sujeito tem ALL. Em modalidades, o sujeito tem um câncer sólido, por exemplo, um câncer sólido descrito aqui. Exemplos de agonistas de GITR incluem, por exemplo, proteínas de fusão com GITR e anticorpos anti-GITR (por exemplo, anticorpos anti-GITR bivalentes) tais como, por exemplo, uma proteína de fusão com GITR descrita na Patente U.S. Nº: 6.111.090, Patente Europeia Nº: 090505B1, Patente U.S. Nº: 8.586.023, Publicações PCT Nºs.: WO 2010/003118 e 2011/090754, ou um anticorpo anti-GITR descrito, por exemplo, na Patente U.S. Nº:

7.025.962, Patente Europeia Nº: 1947183B1, Patente U.S. Nº: 7.812.135, Patente U.S. Nº: 8.388.967, Patente U.S. Nº: 8.591.886, Patente Europeia Nº: EP 1866339, Publicação PCT Nº: WO 2011/028683, Publicação PCT Nº:WO 2013/039954, Publicação PCT Nº: WO2005/007190, Publicação PCT Nº: WO 2007/133822, Publicação PCT Nº: WO2005/055808, Publicação PCT Nº: WO 99/40196, Publicação PCT Nº: WO 2001/03720, Publicação PCT Nº: WO99/20758, Publicação PCT Nº: WO2006/083289, Publicação PCT Nº: WO 2005/115451, Patente U.S. Nº: 7.618.632 e Publicação PCT Nº: WO 2011/051726.

[0934] Em uma modalidade, uma célula que expressa CAR descrita no presente documento é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR descrito no presente documento, por exemplo, um rapálogo, tal como everolimus. Em uma modalidade, o inibidor de mTOR é administrado antes da célula expressando CAR. Por exemplo, em uma modalidade, o inibidor de mTOR pode ser administrado antes de aférese das células. Em uma modalidade, o sujeito tem CLL.

[0935] Em uma modalidade, uma célula que expressa CAR descrita no presente documento é administrada a um sujeito em combinação com um agonista de GITR, por exemplo, um agonista de GITR descrito no presente documento. Em uma modalidade, o agonista de GITR é administrado antes da célula expressando CAR. Por exemplo, em uma modalidade, o agonista de GITR pode ser administrado antes de aférese das células. Em uma modalidade, o sujeito tem CLL.

[0936] Em uma modalidade, uma célula expressando CAR aqui descrita pode ser usada em combinação com um inibidor de quinases. Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de CDK4, por exemplo, um inibidor de CDK4 aqui descrito, por exemplo, um inibidor de CD4/6, tal como, por exemplo, cloridrato de 6-Acetil-8-ciclopentil-5-

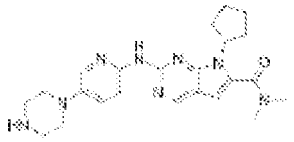
metil-2-(5-piperazin-1-il-piridin-2-ilamino)-8*H*-pirido[2,3-*d*]pirimidin-7-ona (também referido como palbociclib ou PD0332991). Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de BTK, por exemplo, um inibidor de BTK aqui descrito, tal como, por exemplo, ibrutinib. Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR aqui descrito, tal como, por exemplo, rapamicina, um análogo de rapamicina, OSI-027. O inibidor de mTOR pode ser, por exemplo, um inibidor de mTORC1 e/ou um inibidor de mTORC2, por exemplo, um inibidor de mTORC1 e/ou inibidor de mTORC2 aqui descrito. Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de MNK, por exemplo, um inibidor de MNK aqui descrito, tal como, por exemplo, 4-amino-5-(4-fluoroanilino)-pirazolo [3,4-*d*] pirimidina. O inibidor de MNK pode ser, por exemplo, um inibidor de MNK1a, MNK1b, MNK2a e/ou MNK2b. Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de PI3K/mTOR duplo aqui descrito, tal como, por exemplo, PF-04695102.

[0937] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de CDK4 selecionado de aloisina A; flavopiridol ou HMR-1275, 2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidróxi-8-[(3S,4R)-3-hidróxi-1-metil-4-piperidinil]-4-cromenona; crizotinib (PF-02341066); cloridrato de 2-(2-Clorofenil)-5,7-di-hidróxi-8-[(2*R*,3*S*)-2-(hidroximetil)-1-metil-3-pirrolidinil]-4*H*-1-benzopiran-4-ona (P276-00); 1-metil-5-[[2-[5-(trifluorometil)-1*H*-imidazol-2-il]-4-piridinil]óxi]-*N*-[4-(trifluorometil)fenil]-1*H*-benzimidazol-2-amina (RAF265); indisulam (E7070); roscovitina (CYC202); palbociclib (PD0332991); dinaciclib (SCH727965); N-[5-[[(5-*terc*-butiloxazol-2-il)metil]tio]tiazol-2-il]piperidino-4-carboxamida (BMS 387032); ácido 4-[[9-cloro-7-(2,6-difluorofenil)-5*H*-pirimido[5,4-*d*][2]benzazepin-2-il]amino]-benzoico (MLN8054); 5-[3-(4,6-difluoro-1H-benzimidazol-2-il)-1H-indazol-5-il]-N-etil-4-metil-3-piridinometanamina (AG-024322); N-(piperidin-4-il)amida do ácido 4-(2,6-diclorobenzoilamino)-1H-pirazol-3-carboxílico (AT7519);

4-[2-metil-1-(1-metiletil)-1*H*-imidazol-5-il]-*N*-[4-(metilsulfonil)fenil]-2-pirimidinamina (AZD5438); e XL281 (BMS908662).

[0938] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de CDK4, por exemplo, palbociclib (PD0332991), e o palbociclib é administrado a uma dose de cerca de 50 mg, 60 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg (por exemplo, 75 mg, 100 mg ou 125 mg) diariamente durante um período de tempo, por exemplo, diariamente durante 14-21 dias de um ciclo de 28 dias, ou diariamente durante 7-12 dias de um ciclo de 21 dias. Em uma modalidade, são administrados 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ou mais ciclos de palbociclib.

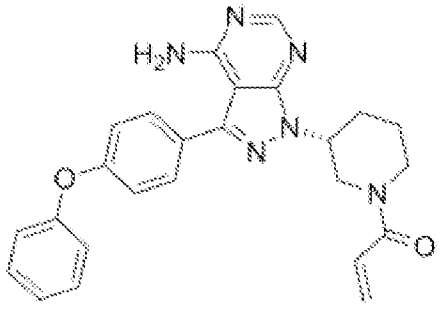
[0939] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de quinase dependente de ciclina (CDK) 4 ou 6, por exemplo, um inibidor de CDK4 ou um inibidor de CDK6 descrito aqui. Em modalidades, uma célula expressando CAR aqui descrita é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de CDK4/6 (por exemplo, um inibidor que visa tanto CDK4 como CDK6), por exemplo, um inibidor de CDK4/6 aqui descrito. Em uma modalidade, o sujeito tem MCL. MCL é um câncer agressivo que não responde bem a terapias atualmente disponíveis, ou seja, essencialmente incurável. Em muitos casos de MCL, ciclina D1 (um regulador de CDK4/6) é expresso (por exemplo, devido a translocação cromossômica envolvendo genes de imunoglobulina e ciclina D1) em células de MCL. Assim, sem querer estar limitado pela teoria, pensa-se que células de MCL são altamente sensíveis a inibição de CDK4/6 com elevada especificidade (ou seja, efeito mínimo em células imunes normais). Inibidores de CDK4/6 isolados têm tido alguma eficácia no tratamento de MCL, mas apenas atingiram remissão parcial com uma elevada taxa de recaída. Um exemplo de inibidor de CDK4/6 é LEE011 (também chamado de ribociclib), cuja estrutura é mostrada abaixo.



[0940] Sem querer estar limitado pela teoria, acredita-se que a administração de uma célula expressando CAR aqui descrita com um inibidor de CDK4/6 (por exemplo, LEE011 ou outro inibidor de CDK4/6 aqui descrito) pode atingir maior responsividade, por exemplo, com taxas de remissão mais elevadas e/ou taxas de recaída mais baixas, por exemplo, em comparação com um inibidor de CDK4/6 isolado.

[0941] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de BTK selecionado de ibrutinib (PCI-32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; e LFM-A13. Em uma modalidade preferencial, o inibidor de BTK não reduz nem inibe a atividade de quinase de quinase induzível por interleucina-2 (ITK), e é selecionado de GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; e LFM-A13.

[0942] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de BTK, por exemplo, ibrutinib (PCI-32765). Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de BTK (por exemplo, ibrutinib). Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com ibrutinib (também denominado PCI-32765). A estrutura do ibrutinib (1-[(3*R*)-3-[4-Amino-3-(4-fenoxifenil)-1*H*-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona) é mostrada abaixo.



[0943] Em modalidades, o sujeito tem CLL, linfoma de células do manto (MCL) ou linfoma linfocítico de pequenas células (SLL). Por exemplo, o sujeito tem uma deleção no braço curto do cromossomo 17 (del(17p), por exemplo, em uma célula leucêmica). Em outros exemplos, o sujeito não tem uma del(17p). Em modalidades, o sujeito tem CLL ou SLL recidivado, por exemplo, o sujeito foi previamente administrado com uma terapia contra câncer (por exemplo, previamente administrado com uma, duas, três ou quatro terapias contra câncer anteriores). Em modalidades, o sujeito tem CLL ou SLL refratário. Em outras modalidades, o sujeito tem linfoma folicular, por exemplo, linfoma folicular recidivado ou refratário. Em algumas modalidades, ibrutinib é administrado a uma dosagem de cerca de 300-600 mg/dia (por exemplo, cerca de 300-350, 350-400, 400-450, 450-500, 500-550 ou 550-600 mg/dia, por exemplo, cerca de 420 mg/dia ou cerca de 560 mg/dia), por exemplo, oralmente. Em modalidades, o ibrutinib é administrado a uma dose de cerca de 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg (por exemplo, 250 mg, 420 mg ou 560 mg) diariamente durante um período de tempo, por exemplo, diariamente durante um ciclo de 21 dias, ou diariamente durante um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, são administrados 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ou mais ciclos de ibrutinib. Sem ficar restringido pela teoria, se crê que a adição de ibrutinib intensifica a resposta proliferativa de células T e pode desviar células T de um fenótipo T-auxiliador-2 (Th2) para T-auxiliador-1 (Th1). Th1 e Th2 são fenótipos de células T auxiliadoras, com Th1 *versus* Th2 dirigindo diferentes vias de resposta imunológica. Um fenótipo Th1 está associado a respostas pró-inflamatórias, por exemplo, para exterminar células, como patógenos/vírus intracelulares ou células cancerígenas, ou perpetuando respostas autoimunes. Um fenótipo Th2 está associado ao acúmulo eosinofílico e respostas anti-inflamatórias.

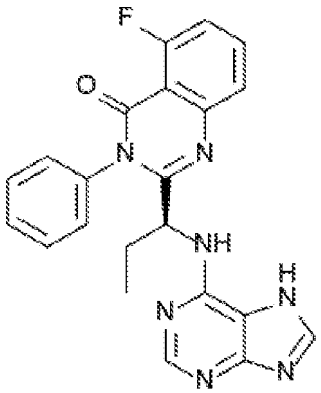
[0944] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de mTOR selecionado de temsirolimus; ridaforolimus (dimetilfosfinato de 1*R*,2*R*,4*S*)-4-[(2*R*)-2 [(1*R*,9*S*,12*S*,15*R*,16*E*,18*R*,19*R*,21*R*, 23*S*,24*E*,26*E*,28*Z*,30*S*,32*S*,35*R*)-1,18-di-hidróxi-19,30-dimetóxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-2,3,10,14,20-pentaoxo-11,36-dioxa-4-azatriciclo[30.3.1.$0^{4,9}$]hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-12-il]propil]-2-metoxiciclo-hexila, também conhecido como AP23573 e MK8669; everolimus (RAD001); rapamicina (AY22989); simapimod; (5-{2,4-bis[(3*S*)-3-metilmorfolin-4-il]pirido[2,3-*d*]pirimidin-7-il}-2-metoxifenil) metanol (AZD8055); 2-amino-8-[*trans*-4-(2-hidroxietóxi)ciclo-hexil]-6-(6-metóxi-3-piridinil)-4-metil-pirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-ona (PF04691502) e N^2-[1,4-dioxo-4-[[4-(4-oxo-8-fenil-4*H*-1-benzopiran-2-il)morfolínio-4-il]metóxi]butil]-L-arginilglicil-L-α-aspartil-L-serina, sal interno (SF1126) (SEQ ID Nº: 1262) e XL765.

[0945] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de mTOR, por exemplo, rapamicina, e a rapamicina é administrada a uma dose de cerca de 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg (por exemplo, 6 mg) diariamente por um período de tempo, por exemplo, diariamente por ciclo de 21 dias ou diariamente por ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ou mais ciclos de rapamicina são administrados. Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de mTOR, por exemplo, everolimus, e o everolimus é administrado a uma dose de cerca de 2 mg, 2,5 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg (por exemplo, 10 mg) diariamente por um período de tempo, por exemplo, diariamente por ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ou mais ciclos de everolimus são administrados.

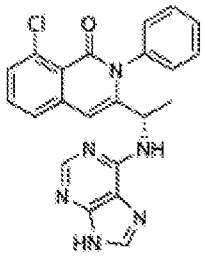
[0946] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é um inibidor de MNK selecionado de CGP052088; 4-amino-3-(p-fluorofenilamino)-

pirazolo[3,4-*d*]pirimidina (CGP57380); cercosporamida; ETC-1780445-2; e 4-amino-5-(4-fluoroanilino)-pirazolo[3,4-*d*]pirimidina.

[0947] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K) (por exemplo, um inibidor de PI3K descrito aqui, por exemplo, idelalisib ou duvelisib) e/ou rituximab. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com idelalisib e rituximab. Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com duvelisib e rituximab. Idelalisib (também denominado GS-1101 ou CAL-101; Gilead) é uma molécula pequena que bloqueia a isoforma delta de PI3K. A estrutura de idelalisib (5-Fluoro-3-fenil-2-[(1*S*)-1-(7*H*-purin-6-ilamino)propil]-4(3*H*)-quinazolinona) é mostrada abaixo.



[0948] Duvelisib (também chamado IPI-145; Infinity Pharmaceuticals e Abbvie) é uma molécula pequena que bloqueia PI3K-δ,γ. A estrutura de duvelisib (8-Cloro-2-fenil-3-[(1S)-1-(9H-purin-6-ilamino)etil]-1(2H)-isoquinolinona) é mostrada abaixo.



[0949] Em modalidades, o sujeito tem CLL. Em modalidades, o sujeito tem CLL recidivante, por exemplo, o sujeito foi previamente administrado com uma terapia para câncer (por exemplo, previamente administrado com um anticorpo anti-CD20 ou previamente administrado com ibrutinib). Por exemplo, o sujeito tem uma deleção no braço curto do cromossomo 17 (del(17p), por exemplo, em uma célula leucêmica). Em outros exemplos, o sujeito não tem uma del(17p). Em modalidades, o sujeito compreende uma célula leucêmica compreendendo uma mutação no gene da região variável de cadeia pesada de imunoglobulina (*IgV*$_H$). Em outras modalidades, o sujeito não compreende uma célula leucêmica compreendendo uma mutação no gene da região variável de cadeia pesada de imunoglobulina (*IgV*$_H$). Em modalidades, o sujeito tem uma deleção no braço longo do cromossomo 11 (del(11q)). Em outras modalidades, o sujeito não tem uma del(11q). Em modalidades, idelalisib é administrado a uma dosagem de cerca de 100-400 mg (por exemplo, 100-125, 125-150, 150-175, 175-200, 200-225, 225-250, 250-275, 275-300, 325-350, 350-375, ou 375-400 mg), por exemplo, BID. Em modalidades, duvelisib é administrado a uma dosagem de cerca de 15-100 mg (por exemplo, cerca de 15-25, 25-50, 50-75 ou 75-100 mg), por exemplo, duas vezes ao dia. Em modalidades, rituximab é administrado a uma dosagem de cerca de 350-550 mg/m^2 (por exemplo, 350-375, 375-400, 400-425, 425-450, 450-475, ou 475-500 mg/m^2), por exemplo, intravenosamente.

[0950] Em uma modalidade, o inibidor de quinases é uma fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) dual e inibidor de mTOR selecionado de 2-Amino-8-[*trans*-4-(2-hidroxietóxi)ciclo-hexil]-6-(6-metóxi-3-piridinil)-4-metil-pirido[2,3-*d*]pirimidin-7(8*H*)-ona (PF-04691502); *N*-[4-[[4-(Dimetilamino)-1-piperidinil]carbonil]fenil]-*N*'-[4-(4,6-di-4-morfolinil-1,3,5-triazin-2-il)fenil]ureia (PF-05212384, PKI-587); 2-Metil-2-{4-[3-metil-2-oxo-8-(quinolin-3-il)-2,3-di-hidro-1*H*-imidazo[4,5-c]quinolin-1-

il]fenil}propanonitrila (BEZ-235); apitolisib (GDC-0980, RG7422); 2,4-Difluoro-N-{2-(metilóxi)-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida (GSK2126458); 8-(6-metoxipiridin-3-il)-3-metil-1-(4-(piperazin-1-il)-3-(trifluorometil)fenil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2(3H)-ona, ácido maleico (NVP-BGT226); 3-[4-(4-Morfolinilpirido[3',2':4,5]furo[3,2-d]pirimidin-2-il]fenol (PI-103); 5-(9-isopropil-8-metil-2-morfolino-9H-purin-6-il)pirimidin-2-amina (VS-5584, SB2343) e N-[2-[(3,5-Dimetoxifenil)amino]quinoxalin-3-il]-4-[(4-metil-3-metoxifenil)carbonil] aminofenilsulfonamida (XL765).

[0951] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de linfoma quinase anaplásica (ALK). Quinases ALK exemplificativas incluem, mas não se limitam a, crizotinib (Pfizer), ceritinib (Novartis), alectinib (Chugai), brigatinib (também denominado AP26113; Ariad), entrectinib (Ignyta), PF-06463922 (Pfizer), TSR-011 (Tesaro) (ver, por exemplo, Identificador de Ensaio Clínico Nº NCT02048488), CEP-37440 (Teva), e X-396 (Xcovery). Em algumas modalidades, o sujeito tem um câncer sólido, por exemplo, um câncer sólido descrito aqui, por exemplo, câncer do pulmão.

[0952] O nome químico de crizotinib é 3-[(1*R*)-1-(2,6-dicloro-3-fluorofenil)etóxi]-5-(1-piperidin-4-ilpirazol-4-il)piridin-2-amina. O nome químico de ceritinib é 5-Cloro-N^2-[2-isopropóxi-5-metil-4-(4-piperidinil)fenil]-N^4-[2-(isopropilsulfonil)fenil]-2,4-pirimidinodiamina. O nome químico de alectinib é 9-etil-6,6-dimetil-8-(4-morfolinopiperidin-1-il)-11-oxo-6,11-di-hidro-5H-benzo[b]carbazol-3-carbonitrila. O nome químico de brigatinib é 5-Cloro-N^2-{4-[4-(dimetilamino)-1-piperidinil]-2-metoxifenil}-N^4-[2-(dimetilfosforil)fenil]-2,4-pirimidinodiamina. O nome químico de entrectinib é N-(5-(3,5-difluorobenzil)-1H-indazol-3-il)-4-(4-metilpiperazin-1-il)-2-((tetra-hidro-2H-piran-4-il)amino)benzamida. O nome químico de PF-06463922 é (10R)-7-Amino-12-fluoro-2,10,16-

trimetil-15-oxo-10,15,16,17-tetra-hidro-2H-8,4-(meteno)pirazolo[4,3-h] [2,5,11]-benzoxadiazaciclotetradecino-3-carbonitrila. A estrutura química de CEP-37440 é (S)-2-((5-cloro-2-((6-(4-(2-hidroxietil) piperazin-1-il)-1-metóxi-6,7,8,9-tetra-hidro-5H-benzo[7]anulen-2-il)amino)pirimidin-4-il)amino)-N-metilbenzamida. O nome químico de X-396 é (R)-6-amino-5-(1-(2,6-dicloro-3-fluorofenil)etóxi)-N-(4-(4-metilpiperazino-1-carbonil)fenil)piridazino-3-carboxamida.

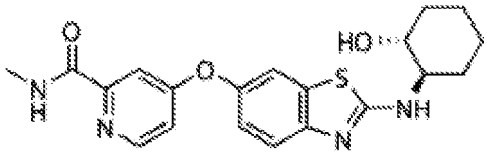
[0953] Fármacos que inibem a fosfatase dependente de cálcio calcineurina (ciclosporina e FK506) ou inibem a p70S6 quinase que é importante para sinalização induzida pelo fator de crescimento (rapamicina) (Liu *et al., Cell* 66:807-815, 1991; Henderson *et al., Immun.* 73:316-321, 1991; Bierer *et al., Curr. Opin. Immun.* 5:763-773, 1993) podem também ser usados. Em um aspecto adicional, as composições celulares da presente invenção podem ser administradas a um paciente em conjunto com (por exemplo, antes, simultaneamente ou após) transplante de medula óssea, terapia ablativa de células T usando agentes quimioterapêuticos como fludarabina, terapia com radiação de feixe externo (XRT), ciclofosfamida e/ou anticorpos como OKT3 ou CAMPATH. Em um aspecto, as composições celulares da presente invenção são administradas a seguir a terapia ablativa de células B como agentes que reagem com CD20, por exemplo, Rituxan. Por exemplo, em uma modalidade, sujeitos podem ser submetidos a tratamento padrão com quimioterapia de dose elevada seguido de transplantação de células-tronco do sangue periférico. Em certas modalidades, a seguir ao transplante, os sujeitos recebem uma infusão das células imunes expandidas da presente invenção. Em uma modalidade adicional, células expandidas são administradas antes ou após cirurgia.

[0954] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um inibidor de indolamina 2,3-dioxigenase (IDO). IDO é uma enzima que catalisa a

degradação do aminoácido, L-triptofano, em quinurenina. Muitos cânceres sobre-expressam IDO, por exemplo, câncer prostático, colorretal, pancreático, cervical, gástrico, do ovário, cabeça e do pulmão. pDCs, macrófagos, e células dendríticas (DCs) podem expressar IDO. Sem ficar limitado pela teoria, se crê que um decréscimo em L-triptofano (por exemplo, catalisado por IDO) resulta em um meio imunossupressor por indução de anergia e apoptose de células T. Assim, sem ficar limitado pela teoria, se crê que um inibidor de IDO pode intensificar a eficácia de uma célula expressando CAR descrita aqui, por exemplo, por decréscimo da supressão ou morte de uma célula imune expressando CAR. Em modalidades, o sujeito tem um tumor sólido, por exemplo, um tumor sólido descrito aqui, por exemplo, câncer prostático, colorretal, pancreático, cervical, gástrico, do ovário, cabeça ou do pulmão. Inibidores de IDO exemplificativos incluem, mas não se limitam a, 1-metil-triptofano, indoximod (NewLink Genetics) (ver, por exemplo, Identificadores de Ensaios Clínicos N^{os}. NCT01191216; NCT01792050) e INCB024360 (Incyte Corp.) (ver, por exemplo, Identificadores de Ensaios Clínicos N^{os}. NCT01604889; NCT01685255).

[0955] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um modulador de células supressoras derivadas de mieloide (MDSCs). MDSCs se acumulam na periferia e no sítio tumoral de muitos tumores sólidos. Estas células suprimem respostas de células T, desse modo restringindo a eficácia da terapia com células expressando CAR. Sem ficar limitado pela teoria, se crê que a administração de um modulador de MDSC intensifica a eficácia de uma célula expressando CAR descrita aqui. Em uma modalidade, o sujeito tem um tumor sólido, por exemplo, um tumor sólido descrito aqui, por exemplo, glioblastoma. Moduladores de MDSCs exemplificativos incluem, mas não se limitam a, MCS110 e BLZ945. MCS110 é um anticorpo monoclonal (mAb) contra o fator

estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF). Ver, por exemplo, Identificador de Ensaios Clínicos Nº NCT00757757. BLZ945 é um inibidor de molécula pequena do receptor do fator estimulador de colônias 1 (CSF1R). Ver, por exemplo, Pyonteck *et al. Nat. Med.* 19(2013):1264-72. A estrutura de BLZ945 é mostrada abaixo.



[0956] Em modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com uma célula T CAR CD19 (por exemplo, CTL019, por exemplo, como descrito em WO2012/079000, incorporado aqui a título de referência, ou CTL119). Em modalidades, o sujeito tem um linfoma CD19+, por exemplo, um Linfoma de não Hodgkin (NHL) CD19+, um FL CD19+ ou um DLBCL CD19+. Em modalidades, o sujeito tem um linfoma CD19+ com recidiva ou refratário. Em modalidades, uma quimioterapia com linfodepleção é administrada ao sujeito antes, de modo concorrente ou após a administração (por exemplo, infusão) de células T CAR CD19. Em um exemplo, a quimioterapia com linfodepleção é administrada ao sujeito antes da administração de células T CAR CD19. Por exemplo, a quimioterapia com linfodepleção termina 1-4 dias (por exemplo, 1, 2, 3 ou 4 dias) antes da infusão de células T CAR CD19. Em modalidades, múltiplas doses de células T CAR CD19 são administradas, por exemplo, como descrito aqui. Por exemplo, uma única dose compreende cerca de 5 x 10^8 células T CAR CD19. Em modalidades, uma quimioterapia com linfodepleção é administrada ao sujeito antes, de modo concorrente ou após a administração (por exemplo, infusão)

de uma célula expressando CAR descrita aqui, por exemplo, uma célula expressando CAR não CD19. Em modalidades, uma CART CD19 é administrada ao sujeito antes, de modo concorrente ou após a administração (por exemplo, infusão) de uma célula expressando CAR não CD19, por exemplo, uma célula expressando CAR não CD19 descrita aqui.

[0957] Em algumas modalidades, uma célula expressando CAR descrita aqui é administrada a um sujeito em combinação com um polipeptídeo de interleucina-15 (IL-15), um polipeptídeo de receptor alfa de interleucina-15 (IL-15Ra) ou uma combinação de um polipeptídeo de IL-15 e um polipeptídeo de IL-15Ra, por exemplo, hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC). hetIL-15 é um complexo não covalente heterodimérico de IL-15 e IL-15Ra. hetIL-15 é descrito, por exemplo, em U.S. 8.124.084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413 e U.S. 2011/0081311, incorporados aqui a título de referência. Em modalidades, het-IL-15 é administrado subcutaneamente. Em modalidades, o sujeito tem um câncer, por exemplo, câncer sólido, por exemplo, melanoma ou câncer do cólon. Em modalidades, o sujeito tem um câncer metastático.

[0958] Em uma modalidade, ao sujeito pode ser administrado um agente que reduz ou melhora um efeito secundário associado à administração de uma célula expressando CAR. Efeitos secundários associados à administração de uma célula expressando CAR incluem, mas não se limitam a, CRS e linfo-histiocitose hemafagocítica (HLH), também designada Síndrome de Ativação de Macrófagos (MAS). Os sintomas de CRS incluem febres altas, náusea, hipotensão transitória, hipoxia e similares. CRS pode incluir sinais e sintomas constitucionais clínicos como febre, fadiga, anorexia, mialgias, artralgias, náusea, vômitos e cefaleias. CRS pode incluir sinais e sintomas clínicos ao nível da pele como erupções cutâneas. CRS pode incluir sinais e sintomas

gastrointestinais clínicos tais como náusea, vômitos e diarreia. CRS pode incluir sinais e sintomas respiratórios clínicos tais como taquipneia e hipoxemia. CRS pode incluir sinais e sintomas cardiovasculares clínicos tais como taquicardia, pressão arterial aumentada, hipotensão, aumento do débito cardíaco (início) e potencialmente redução do débito cardíaco (tardio). CRS pode incluir sinais e sintomas clínicos de coagulação tais como dímero D elevado, hipofibrinogenemia com ou sem hemorragia. CRS pode incluir sinais e sintomas clínicos renais tais como azotemia. CRS pode incluir sinais e sintomas hepáticos clínicos tais como transaminite e hiperbilirrubinemia. CRS pode incluir sinais e sintomas neurológicos clínicos tais como cefaleia, alterações do estado mental, confusão, delírio, dificuldade em encontrar as palavras ou afasia clara, alucinações, tremuras, dimetria, motricidade alterada e convulsões.

[0959] Em conformidade, os métodos aqui descritos podem compreender administrar uma célula expressando CAR aqui descrita a um sujeito e administrar adicionalmente um ou mais agentes para gerenciar níveis elevados de um fator solúvel resultante de tratamento com uma célula expressando CAR. Em uma modalidade, o fator solúvel elevado no sujeito é um ou mais de IFN-γ, TNFα, IL-2 e IL-6. Em uma modalidade, o fator elevado no sujeito é um ou mais de IL-1, GM-CSF, IL-10, IL-8, IL-5 e fractalquina. Assim, um agente administrado para tratar este efeito secundário pode ser um agente que neutraliza um ou mais destes fatores solúveis. Em uma modalidade, o agente que neutraliza uma ou mais destas formas solúveis é um anticorpo ou seu fragmento de ligação a antígenos. Exemplos de tais agentes incluem, mas não se limitam a, um esteroide (por exemplo, corticosteroide), um inibidor de TNFα e um inibidor de IL-6. Um exemplo de um inibidor de TNFα é uma molécula de anticorpo anti-TNFα tal como infliximab, adalimumab, certolizumab pegol e golimumab. Outro exemplo de um

inibidor de TNFα é uma proteína de fusão como etanercept. Inibidores de moléculas pequenas de TNFα incluem, mas não se limitam a, derivados de xantina (por exemplo, pentoxifilina) e bupropiona. Um exemplo de um inibidor de IL-6 é uma molécula de anticorpo anti-IL-6 ou uma molécula de anticorpo anti-receptor de IL-6 tal como tocilizumab (toc), sarilumab, elsilimomab, CNTO 328, ALD518/BMS-945429, CNTO 136, CPSI-2364, CDP6038, VX30, ARGX-109, FE301 e FM101. Em uma modalidade, a molécula de anticorpo anti-receptor de IL-6 é tocilizumab. Um exemplo de um inibidor de base IL-1R é anaquinra.

[0960] Em uma modalidade, ao sujeito pode ser administrado um agente que intensifica a atividade de uma célula expressando CAR. Por exemplo, em uma modalidade, o agente pode ser um agente que inibe uma molécula inibidora. Moléculas inibidoras, por exemplo, Morte Programada 1 (PD-1), podem, em algumas modalidades, diminuir a capacidade de uma célula expressando CAR para montar uma resposta imune efetora. Os exemplos de moléculas inibidoras incluem PD-1, PD-L1, CTLA-4, TIM-3, CEACAM (por exemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5), LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 e TGF beta. A inibição de uma molécula inibidora, por exemplo, por inibição ao nível do DNA, RNA ou proteína, pode otimizar o desempenho de uma célula expressando CAR. Em modalidades, um ácido nucleico inibidor, por exemplo, um dsRNA, por exemplo, um siRNA ou shRNA, repetições palindrômicas curtas agrupadas regularmente intervaladas (CRISPR), uma nuclease efetora do tipo ativador da transcrição (TALEN) ou uma endonuclease dedo de zinco (ZFN), por exemplo, como descrito aqui, pode ser usado para inibir a expressão de uma molécula inibidora na célula expressando CAR. Em uma modalidade, o inibidor é um shRNA. Em uma modalidade, a molécula inibidora é inibida dentro de uma célula que expressa CAR. Nessas modalidades, uma molécula de dsRNA que inibe a expressão

da molécula inibidora está ligada ao ácido nucleico que codifica um componente, por exemplo, todos os componentes, do CAR. Em uma modalidade, o inibidor de um sinal inibidor pode ser, por exemplo, um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga a uma molécula inibidora. Por exemplo, o agente pode ser um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga a PD-1, PD-L1, PD-L2 ou CTLA4 (por exemplo, ipilimumab (também referido como MDX-010 e MDX-101, e comercializado como Yervoy®; Bristol-Myers Squibb; Tremelimumab (anticorpo monoclonal IgG2 comercializado pela Pfizer, anteriormente conhecido como ticilimumab, CP-675,206)). Em uma modalidade, o agente é um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga a TIM3. Em uma modalidade, o agente é um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga a CEACAM (CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5). Em uma modalidade, o agente é um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga a LAG3.

[0961] PD-1 é um membro inibidor da família de receptores CD28 que também inclui CD28, CTLA-4, ICOS e BTLA. PD-1 é expresso em células B, células T e células mieloides ativadas (Agata *et al.* 1996 *Int. Immunol* 8:765-75). Foi mostrado que dois ligantes para PD-1, PD-L1 e PD-L2 subregulam a ativação de células T por ligação a PD-1 (Freeman *et al.* 2000 *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman *et al.* 2001 *Nat Immunol* 2:261-8; Carter *et al.* 2002 *Eur J Immunol* 32:634-43). PD-L1 é abundante em cânceres humanos (Dong *et al.* 2003 *J Mol Med* 81:281-7; Blank *et al.* 2005 *Cancer Immunol. Immunother* 54:307-314; Konishi *et al.* 2004 *Clin Cancer Res* 10:5094). A supressão imune pode ser revertida por inibição da interação local de PD-1 com PD-L1. Anticorpos, fragmentos de anticorpos e outros inibidores de PD-1, PD-L1 e PD-L2 estão disponíveis na técnica e podem ser usados em combinação com CARs da presente invenção descritos aqui. Por exemplo, nivolumab (também referido como BMS-936558 ou MDX1106; Bristol-Myers

Squibb) é um anticorpo monoclonal IgG4 totalmente humano que bloqueia especificamente PD-1. Nivolumab (clone 5C4) e outros anticorpos monoclonais humanos que se ligam especificamente a PD-1 são revelados em US 8,008,449 e WO2006/121168. Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) é um anticorpo monoclonal IgG1k humanizado que se liga a PD-1. Pidilizumab e outros anticorpos monoclonais anti-PD-1 humanizados são revelados em WO2009/101611. Pembrolizumab (anteriormente conhecido como lambrolizumab, e também referido como MK03475; Merck) é um anticorpo monoclonal IgG4 humanizado que se liga a PD-1. Pembrolizumab e outros anticorpos anti-PD-1 humanizados são revelados em US 8.354.509 e WO2009/114335. MEDI4736 (Medimmune) é um anticorpo monoclonal humano que se liga a PDL1 e inibe a interação do ligante com PD1. MDPL3280A (Genentech/Roche) é um anticorpo monoclonal IgG1 otimizado em Fc humano que se liga a PD-L1. MDPL3280A e outros anticorpos monoclonais humanos para PD-L1 são revelados na Patente U.S. Nº.: 7,943,743 e Publicação U.S. Nº.: 20120039906. Outros agentes de ligação anti-PD-L1 incluem YW243.55.S70 (as regiões variáveis das cadeias pesada e leve são mostradas em SEQ ID Nºs 20 e 21 em WO2010/077634) e MDX-1 105 (também referido como BMS-936559 e, por exemplo, agentes de ligação anti-PD-L1 revelados em WO2007/005874). AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; por exemplo, revelado em WO2010/027827 e WO2011/066342) é um receptor solúvel de fusão de Fc PD-L2 que bloqueia a interação entre PD-1 e B7-H1. Outros anticorpos anti-PD-1 incluem AMP 514 (Amplimmune), entre outros, por exemplo, anticorpos anti-PD-1 revelados em US 8,609,089, US 2010028330 e/ou US 20120114649.

[0962] TIM-3 (imunoglobulina-3 de células T) também regula negativamente a função de células T, em particular em células T CD4+ 1 auxiliadoras e T CD8+ 1 citotóxicas segregando IFN-g e desempenha

um papel crítico na exaustão de células T. A inibição da interação entre TIM3 e os seus ligantes, por exemplo, galectina-9 (Gal9), fosfotidilserina (PS) e HMGB1, pode aumentar a resposta imunológica. Anticorpos, fragmentos de anticorpos e outros inibidores de TIM3 e seus ligantes estão disponíveis na técnica e podem ser usados em combinação com um CAR CD19 descrito aqui. Por exemplo, anticorpos, fragmentos de anticorpo, moléculas pequenas ou inibidores peptídicos que visam TIM3 se ligam ao domínio IgV de TIM3 para inibir a interação com os seus ligantes. Anticorpos e peptídeos que inibem TIM3 são revelados em WO2013/006490 e US20100247521. Outros anticorpos anti-TIM3 incluem versões humanizadas de RMT3-23 (reveladas em Ngiow *et al.*, 2011, *Cancer Res*, 71:3540-3551), e clone 8B.2C12 (revelado em Monney *et al.*, 2002, *Nature*, 415:536-541). Anticorpos biespecíficos que inibem TIM3 e PD-1 são revelados em US20130156774.

[0963] Em outras modalidades, o agente que intensifica a atividade de uma célula expressando CAR é um inibidor de CEACAM (por exemplo, inibidor de CEACAM-1, CEACAM-3 e/ou CEACAM-5). Em uma modalidade, o inibidor de CEACAM é uma molécula de anticorpo anti-CEACAM. Anticorpos anti-CEACAM-1 exemplificativos são descritos em WO 2010/125571, WO 2013/082366, WO 2014/059251 e WO 2014/022332, por exemplo, um anticorpo monoclonal 34B1, 26H7 e 5F4; ou uma sua forma recombinante, como descrito, por exemplo, em US 2004/0047858, US 7,132,255 e WO 99/052552. Em outras modalidades, o anticorpo anti-CEACAM liga-se a CEACAM-5 como descrito em, por exemplo, Zheng et al. *PLoS One*. 2 de setembro de 2010;5(9). pii: e12529 (DOI:10:1371/journal.pone.0021146), ou tem reatividade cruzada com CEACAM-1 e CEACAM-5 como descrito em, por exemplo, WO 2013/054331 e US 2014/0271618.

[0964] Sem pretender ficar restringido pela teoria, se crê que moléculas de adesão de células a antígenos carcinoembriônicos

(CEACAM), tais como CEACAM-1 e CEACAM-5, mediam, pelo menos em parte, a inibição de uma resposta imune antitumoral (ver, por exemplo, Markel *et al. J Immunol.* 15 de março de 2002;168(6):2803-10; Markel *et al. J Immunol.* 1 de novembro de 2006;177(9):6062-71; Markel *et al. Immunology.* fevereiro de 2009;126(2):186-200; Markel *et al. Cancer Immunol Immunother.* Fevereiro de 2010;59(2):215-30; Ortenberg *et al. Mol Cancer Ther.* junho de 2012;11(6):1300-10; Stern *et al. J Immunol.* 1 de junho de 2005;174(11):6692-701; Zheng *et al. PLoS One.* 2 de setembro de 2010;5(9). pii: e12529). Por exemplo, CEACAM-1 foi descrito como um ligante heterofílico para TIM-3 e como desempenhando um papel em tolerância e exaustão de células T mediadas por TIM-3 (ver, por exemplo, WO 2014/022332; Huang, *et al.* (2014) *Nature* doi:10.1038/nature13848). Em modalidades, foi mostrado que o cobloqueio de CEACAM-1 e TIM-3 intensifica uma resposta imune antitumoral em modelos de xenoenxerto de câncer colorretal (ver, por exemplo, WO 2014/022332; Huang, *et al.* (2014), *supra*). Em outras modalidades, o cobloqueio de CEACAM-1 e PD-1 reduz a tolerância a células T como descrito, por exemplo, em WO 2014/059251. Assim, inibidores de CEACAM podem ser usados com os outros imunomoduladores descritos aqui (por exemplo, inibidores anti-PD-1 e/ou anti-TIM-3) para intensificar uma resposta imune contra um câncer, por exemplo, um melanoma, um câncer do pulmão (por exemplo, NSCLC), um câncer da bexiga, um câncer do cólon, um câncer do ovário e outros cânceres como descrito aqui.

[0965] LAG-3 (gene-3 de ativação de linfócitos ou CD223) é uma molécula de superfície celular expressa em células T e células B ativadas que se tem demonstrado que desempenha um papel na exaustão de células T CD8+. Anticorpos, fragmentos de anticorpos e outros inibidores de LAG-3 e seus ligantes estão disponíveis na técnica e podem ser usados em combinação com um CAR CD19 descrito aqui.

Por exemplo, BMS-986016 (Bristol-Myers Squib) é um anticorpo monoclonal que visa LAG3. IMP701 (Immutep) é um anticorpo antagonista de LAG-3 e IMP731 (Immutep e GlaxoSmithKline) é um anticorpo de depleção de LAG-3. Outros inibidores de LAG-3 incluem IMP321 (Immutep), que é uma proteína de fusão recombinante de uma porção solúvel de LAG3 e Ig que se liga a moléculas MHC de classe II e ativa células apresentadoras de antígenos (APC). Outros anticorpos são revelados, por exemplo, em WO2010/019570.

[0966] Em algumas modalidades, o agente que intensifica a atividade de uma célula expressando CAR pode ser, por exemplo, uma proteína de fusão compreendendo um primeiro domínio e um segundo domínio, em que o primeiro domínio é uma molécula inibidora, ou um seu fragmento, e o segundo domínio é um polipeptídeo que está associado a um sinal positivo, por exemplo, um polipeptídeo compreendendo um domínio de sinalização intracelular como descrito aqui. Em algumas modalidades, o polipeptídeo que está associado a um sinal positivo pode incluir um domínio coestimulador de CD28, CD27, ICOS, por exemplo, um domínio de sinalização intracelular de CD28, CD27 e/ou ICOS, e/ou um domínio de sinalização primário, por exemplo, de CD3 zeta, por exemplo, como descrito neste documento. Em uma modalidade, a proteína de fusão é expressa pela mesma célula que expressou o CAR. Em outra modalidade, a proteína de fusão é expressa por uma célula, por exemplo, uma célula T que não expressa um CAR da presente invenção.

[0967] Em uma modalidade, o agente que intensifica a atividade de uma célula expressando CAR aqui descrita é miR-17-92.

[0968] Em uma modalidade, o agente que intensifica a atividade de um CAR aqui descrito é uma citocina. As citocinas têm funções importantes relacionadas com a expansão, diferenciação, sobrevivência e homeostase de células T. As citocinas que podem ser administradas

ao sujeito recebendo uma célula expressando CAR aqui descrita incluem: IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18 e IL-21, ou uma sua combinação. Em modalidades preferenciais, a citocina administrada é IL-7, IL-15 ou IL-21, ou uma sua combinação. A citocina pode ser administrada uma vez por dia ou mais do que uma vez por dia, por exemplo, duas vezes por dia, três vezes por dia ou quatro vezes por dia. A citocina pode ser administrada durante mais de um dia, por exemplo, a citocina é administrada durante 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias, uma semana, duas semanas, 3 semanas ou 4 semanas. Por exemplo, a citocina é administrada uma vez por dia durante 7 dias.

[0969] Em modalidades, a citocina é administrada em combinação com células T expressando CAR. A citocina pode ser administrada simultânea ou concomitantemente com as células T expressando CAR, por exemplo, administrada no mesmo dia. A citocina pode ser preparada na mesma composição farmacêutica das células T expressando CAR ou pode ser preparada em uma composição farmacêutica separada. Em alternativa, a citocina pode ser administrada pouco depois da administração das células T expressando CAR, por exemplo, 1 dia, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias ou 7 dias após a administração das células T expressando CAR. Em modalidades em que a citocina é administrada em um regime de dosagem que ocorre durante mais de um dia, o primeiro dia do regime de dosagem de citocina pode ser no mesmo dia da administração com as células T expressando CAR, ou o primeiro dia do regime de dosagem de citocina pode ser 1 dia, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias ou 7 dias após a administração das células T expressando CAR. Em uma modalidade, no primeiro dia, as células T expressando CAR são administradas ao sujeito, e, no segundo dia, uma citocina é administrada uma vez ao dia durante os 7 dias que se seguem. Em uma modalidade preferencial, a citocina a ser administrada em combinação com células T expressando CAR é IL-7, IL-15 ou IL-21.

[0970] Em outras modalidades, a citocina é administrada um período de tempo após a administração de células expressando CAR, por exemplo, pelo menos duas semanas, 3 semanas, 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 10 semanas, 12 semanas, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses ou 1 ano ou mais após administração de células expressando CAR. Em uma modalidade, a citocina é administrada após avaliação da resposta do sujeito às células expressando CAR. Por exemplo, ao sujeito são administradas células expressando CAR de acordo com a dosagem e regimes aqui descritos. A resposta do sujeito à terapia com células expressando CAR é avaliada às 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 10 semanas, 12 semanas, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses ou 1 ano ou mais após administração de células expressando CAR, usando qualquer um dos métodos aqui descritos, incluindo inibição de crescimento tumoral, redução de células tumorais em circulação ou regressão tumoral. A sujeitos que não exibem uma resposta suficiente à terapia de células expressando CAR pode ser administrada uma citocina. A administração da citocina ao sujeito que tem resposta subótima à terapia com células expressando CAR melhora a eficácia de células expressando CAR ou a atividade anticancerígena. Em uma modalidade preferencial, a citocina administrada após administração das células expressando CAR é IL-7.

Combinação com uma dose baixa de um inibidor de mTOR

[0971] Em uma modalidade, as células expressando uma molécula CAR, por exemplo, uma molécula CAR aqui descrita, são administradas em combinação com uma dose baixa intensificadora de imunidade de um inibidor de mTOR.

[0972] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 5, mas

não maior que 90%, pelo menos 10, mas não maior que 90%, pelo menos 15, mas não maior que 90%, pelo menos 20, mas não maior que 90%, pelo menos 30, mas não maior que 90%, pelo menos 40, mas não maior que 90%, pelo menos 50, mas não maior que 90%, pelo menos 60, mas não maior que 90% ou pelo menos 70, mas não maior que 90%.

[0973] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 5, mas não maior que 80%, pelo menos 10, mas não maior que 80%, pelo menos 15, mas não maior que 80%, pelo menos 20, mas não maior que 80%, pelo menos 30, mas não maior que 80%, pelo menos 40, mas não maior que 80%, pelo menos 50, mas não maior que 80% ou pelo menos 60, mas não maior que 80%.

[0974] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 5, mas não maior que 70%, pelo menos 10, mas não maior que 70%, pelo menos 15, mas não maior que 70%, pelo menos 20, mas não maior que 70%, pelo menos 30, mas não maior que 70%, pelo menos 40, mas não maior que 70% ou pelo menos 50, mas não maior que 70%.

[0975] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 5, mas não maior que 60%, pelo menos 10, mas não maior que 60%, pelo menos 15, mas não maior que 60%, pelo menos 20, mas não maior que 60%, pelo menos 30, mas não maior que 60% ou pelo menos 40, mas não maior que 60%.

[0976] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 5, mas não maior que 50%, pelo menos 10, mas não maior que 50%, pelo menos 15, mas não maior que 50%, pelo menos 20, mas não maior que 50%, pelo menos 30, mas não maior que 50% ou pelo menos 40, mas não maior que 50%.

[0977] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 5, mas não maior que 40%, pelo menos 10, mas não maior que 40%, pelo menos 15, mas não maior que 40%, pelo menos 20, mas não maior que 40%, pelo menos 30, mas não maior que 40% ou pelo menos 35, mas não maior que 40%.

[0978] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 5, mas não maior que 30%, pelo menos 10, mas não maior que 30%, pelo menos 15, mas não maior que 30%, pelo menos 20, mas não maior que 30% ou pelo menos 25, mas não maior que 30%.

[0979] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 1, 2, 3, 4 ou 5, mas não maior que 20%, pelo menos 1, 2, 3, 4 ou 5, mas não maior que 30%, pelo menos 1, 2, 3, 4 ou 5, mas não maior que 35, pelo menos 1, 2, 3, 4 ou 5, mas não maior que 40% ou pelo menos 1, 2, 3, 4 ou 5, mas não maior que 45%.

[0980] Em uma modalidade, uma dose de um inibidor de mTOR está associada a ou fornece inibição de mTOR de pelo menos 1, 2, 3, 4 ou 5, mas não maior que 90%.

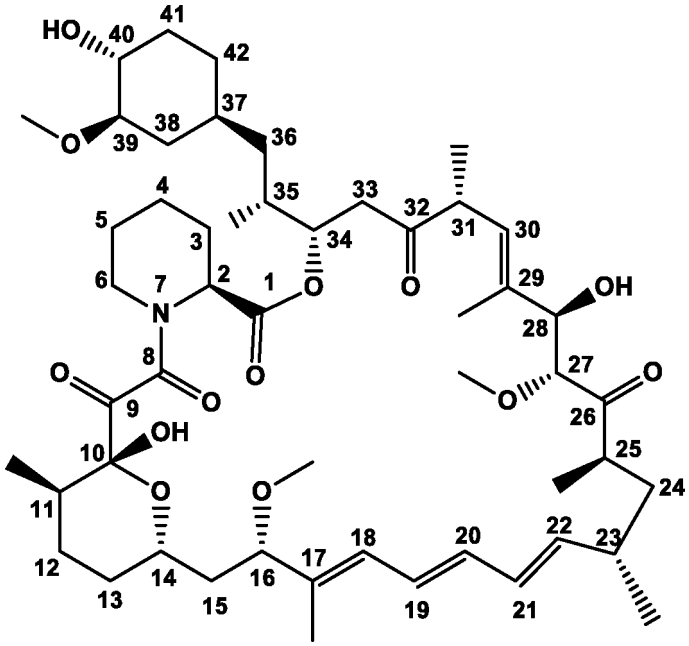
[0981] Conforme discutido no presente documento, a extensão da inibição de mTOR pode ser expressa como a extensão de inibição de quinase P70 S6, por exemplo, a extensão de inibição de mTOR pode ser determinada pelo nível de diminuição da atividade de quinase P70 S6, por exemplo, pela diminuição da fosforilação de um substrato de quinase P70 S6. O nível de inibição de mTOR pode ser avaliado por um método descrito no presente documento, por exemplo, pelo ensaio de Boulay ou medição de níveis de S6 fosforilado por transferência Western.

Inibidores exemplificativos de mTOR

[0982] Como usado aqui, o termo "inibidor de mTOR" se refere a um composto ou ligante, ou um sal farmaceuticamente aceitável deste, que inibe a quinase mTOR em uma célula. Em uma modalidade, um inibidor de mTOR é um inibidor alostérico. Em uma modalidade, um inibidor de mTOR é um inibidor catalítico.

[0983] Inibidores de mTOR alostéricos incluem o composto tricíclico neutro rapamicina (sirolimus), compostos relacionados com rapamicina, isto é, compostos tendo similaridade estrutural e funcional com rapamicina, incluindo, por exemplo, derivados de rapamicina, análogos de rapamicina (também referidos como rapálogos) e outros compostos macrolídeos que inibem a atividade de mTOR.

[0984] A rapamicina é um antibiótico macrolídeo conhecido produzido por *Streptomyces hygroscopicus* que tem a estrutura mostrada na Fórmula A.



(A)

[0985] Ver, por exemplo, McAlpine, J.B., *et al., J. Antibiotics* (1991) 44: 688; Schreiber, S.L., *et al., J. Am. Chem. Soc.* (1991) 113: 7433; Patente U.S. Nº. 3,929,992. Há vários esquemas de numeração

propostos para rapamicina. Para evitar confusão, quando análogos de rapamicina específicos são indicados no presente documento, os nomes são dados em referência à rapamicina com o uso do esquema de numeração da fórmula A.

[0986] Análogos de rapamicina úteis na invenção são, por exemplo, análogos O-substituídos, em que o grupo hidroxila no anel ciclo-hexila da rapamicina é substituído por OR_1, em que R_1 é hidroxialquila, hidroxialcoxialquila, acilaminoalquila ou aminoalquila; por exemplo, RAD001, também conhecido como everolimus, como descrito em US 5.665.772 e WO94/09010, cujo conteúdo é incorporado a título de referência. Outros análogos de rapamicina adequados incluem aqueles substituídos na posição 26 ou 28. O análogo de rapamicina pode ser um epímero de um análogo mencionado acima, particularmente um epímero de um análogo substituído na posição 40, 28 ou 26 e pode ser opcionalmente, ainda, hidrogenado, por exemplo, conforme descrito nos documentos Nºs US 6.015.815, WO95/14023 e WO99/15530, cujo conteúdo está incorporado a título de referência, por exemplo, ABT578 também conhecido como zotarolimus ou um análogo de rapamicina descrito nos documentos Nºs US 7.091.213, WO98/02441 e WO01/14387, cujo conteúdo está incorporado a título de referência, por exemplo, AP23573 também conhecido como ridaforolimus.

[0987] Os exemplos de análogos de rapamicina adequados para uso na presente invenção do documento Nº US 5,665,772 incluem, porém sem limitação, 40-O-benzil-rapamicina, 40-O-(4'-hidroximetil) benzil-rapamicina, 40-O-[4'-(1,2-di-hidroxietil)]benzil-rapamicina, 40-O-alil-rapamicina, 40-O-[3'-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4(S)-il)-prop-2'-en-1'-il]-rapamicina, (2'E,4'S)-40-O-(4',5'-di-hidroxipent-2'-en-1'-il)-rapamicina, 40-O-(2-hidróxi)etoxicarbonilmetil-rapamicina, 40-O-(2-hidróxi)etil-rapamicina, 40-O-(3-hidróxi)propil-rapamicina, 40-O-(6-hidróxi)hexil-rapamicina, 40-O-[2-(2-hidróxi)etóxi]etil-rapamicina, 40-O-

[(3S)-2,2-dimetildioxolan-3-il]metil-rapamicina, 40-O-[(2S)-2,3-di-hidroxiprop-1-il]-rapamicina, 40-O-(2-acetóxi)etil-rapamicina, 40-O-(2-nicotinoilóxi)etil-rapamicina, 40-O-[2-(N-morfolino)acetóxi]etil-rapamicina, 40-O-(2-N-imidazolilacetóxi)etil-rapamicina, 40-O-[2-(N-metil-N'-piperazinil)acetóxi]etil-rapamicina, 39-O-desmetil-39,40-O,O-etileno-rapamicina, (26R)-26-di-hidro-40-O-(2-hidróxi)etil-rapamicina, 40-O-(2-aminoetil)-rapamicina, 40-O-(2-acetaminoetil)-rapamicina, 40-O-(2-nicotinamidoetil)-rapamicina, 40-O-(2-(N-metil-imidazo-2'-ilcarbetoxamido)etil)-rapamicina, 40-O-(2-etoxicarbonilaminoetil)-rapamicina, 40-O-(2-tolilsulfonamidoetil)-rapamicina e 40-O-[2-(4',5'-dicarboetóxi-1',2',3'-triazol-1'-il)-etil]-rapamicina.

[0988] Outros análogos da rapamicina úteis na presente invenção são análogos em que o grupo hidroxila no anel ciclo-hexila da rapamicina e/ou o grupo hidróxi na posição 28 são substituídos por um grupo hidroxiéster, são conhecidos, por exemplo, análogos da rapamicina presentes em US RE44,768, por exemplo, temsirolimus.

[0989] Outros análogos de rapamicina úteis na presente invenção incluem aqueles em que o grupo metóxi na posição 16 é substituído por outro substituinte, de preferência, alquiniloxi, benzila, ortometoxibenzila ou clorobenzila (opcionalmente hidróxi-substituídos) e/ou em que o grupo metóxi na posição 39 é deletado juntamente com o carbono 39, de modo que o anel ciclo-hexila de rapamicina se torna em um anel ciclopentila sem o grupo metóxi da posição 39; por exemplo, como descrito em WO95/16691 e WO96/41807, cujo conteúdo é incorporado a título de referência. Os análogos podem ser, ainda, modificados de modo que o hidróxi na posição 40 de rapamicina seja alquilado e/ou o carbonila em 32 seja reduzido.

[0990] Análogos de rapamicina de WO95/16691 incluem, porém sem limitação, 16-desmetóxi-16-(pent-2-inil)óxi-rapamicina, 16-desmetóxi-16-(but-2-inil)óxi-rapamicina, 16-desmetóxi-16-

(propargil)óxi-rapamicina, 16-desmetóxi-16-(4-hidróxi-but-2-inil)óxi-rapamicina, 16-desmetóxi-16-benzilóxi-40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, 16-desmetóxi-16-benzilóxi-rapamicina, 16-desmetóxi-16-orto-metoxibenzil-rapamicina, 16-desmetóxi-40-O-(2-metoxietil)-16-pent-2-inil)óxi-rapamicina, 39-desmetóxi-40-desóxi-39-formil-42-nor-rapamicina, 39-desmetóxi-40-desóxi-39-hidroximetil-42-nor-rapamicina, 39-desmetóxi-40-desóxi-39-carbóxi-42-nor-rapamicina, 39-desmetóxi-40-desóxi-39-(4-metil-piperazin-1-il)carbonil-42-nor-rapamicina, 39-desmetóxi-40-desóxi-39-(morfolin-4-il)carbonil-42-nor-rapamicina, 39-desmetóxi-40-desóxi-39-[N-metil-N-(2-piridin-2-il-etil)]carbamoil-42-nor-rapamicina e 39-desmetóxi-40-desóxi-39-(p-toluenossulfonil-hidrazonometil)-42-nor-rapamicina.

[0991] Análogos de rapamicina de WO96/41807 incluem, porém sem limitação, 32-desoxo-rapamicina, 16-O-pent-2-inil-32-desoxo-rapamicina, 16-O-pent-2-inil-32-desoxo-40-O-(2-hidróxi-etil)-rapamicina, 16-O-pent-2-inil-32-(S)-di-hidro-40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, 32(S)-di-hidro-40-O-(2-metóxi)etil-rapamicina e 32(S)-di-hidro-40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina.

[0992] Outro análogo de rapamicina adequado é umirolimus como descrito em US2005/0101624, cujo conteúdo é incorporado a título de referência.

[0993] RAD001, conhecido de outro modo como everolimus (Afinitor®), tem o nome químico (1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-di-hidróxi-12-{(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-hidroxietóxi)-3-metoxiciclo-hexil]-1-metiletil}-19,30-dimetóxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-11,36-dioxa-4-aza-triciclo[30.3.1.04,9]hexatriaconta-16,24,26,28-tetraeno-2,3,10,14,20-pentanona.

[0994] Outros exemplos de inibidores de mTOR alostéricos incluem sirolimus (rapamicina, AY-22989), 40-[3-hidróxi-2-(hidroximetil)-2-

metilpropanoato]-rapamicina (também chamado de temsirolimus ou CCI-779) e ridaforolimus (AP-23573/MK-8669). Outros exemplos de inibidores de mTor alostéricos incluem zotarolimus (ABT578) e umirolimus.

[0995] Alternativa ou adicionalmente, inibidores de mTOR competitivos por ATP catalíticos mostraram visar o domínio de quinase de mTOR diretamente e visam tanto mTORC1 quanto mTORC2. Esses são também inibidores mais efetivos de mTORC1 do que tais inibidores de mTOR alostéricos, como rapamicina, devido ao fato de que modulam saídas de mTORC1 resistentes à rapamicina, tal como fosforilação de 4EBP1-T37/46 e tradução dependente de *cap*.

[0996] Os inibidores catalíticos incluem: BEZ235 ou 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-di-hidro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-fenil]-propionitrila, ou a forma de sal monotosilato, a síntese de BEZ235 é descrita em WO2006/122806; CCG168 (conhecido de outro modo como AZD-8055, Chresta, C.M., *et al., Cancer Res*, 2010, 70(1), 288-298) que tem o nome químico {5-[2,4-bis-((S)-3-metil-morfolin-4-il)-pirido[2,3-d]pirimidin-7-il]-2-metóxi-fenil}-metanol; 3-[2,4-bis[(3S)-3-metilmorfolin-4-il]pirido[2,3-d]pirimidin-7-il]-N-metilbenzamida (WO09104019); 3-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina (WO10051043 e WO2013023184); Uma N-(3-(N-(3-((3,5-dimetoxifenil)amino)quinoxalino-2-il)sulfamoil) fenil)-3-metóxi-4-metilbenzamida (WO07044729 e WO12006552); PKI-587 (Venkatesan, A.M., *J. Med.Chem.*, 2010, 53, 2636-2645) que tem o nome químico 1-[4-[4-(dimetilamino)piperidino-1-carbonil]fenil]-3-[4-(4,6-dimorfolino-1,3,5-triazin-2-il)fenil]ureia; GSK-2126458 (*ACS Med. Chem. Lett.*, 2010, 1, 39-43) que tem o nome químico 2,4-difluoro-N-{2-metóxi-5-[4-(4-piridazinil)-6-quinolinil]-3-piridinil}benzenossulfonamida; 5-(9-isopropil-8-metil-2-morfolino-9H-purin-6-il)pirimidin-2-amina (WO10114484); (E)-N-(8-(6-amino-5-(trifluorometil)piridin-3-il)-1-(6-(2-

cianopropan-2-il)piridin-3-il)-3-metil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-2(3H)-ilideno)cianamida (WO12007926).

[0997] Outros exemplos de inibidores de mTOR catalíticos incluem 8-(6-metóxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluorometil-fenil)-1,3-di-hidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (WO2006/122806) e Ku-0063794 (Garcia-Martinez JM, *et al., Biochem J.*, 2009, 421(1), 29-42. Ku-0063794 é um inibidor específico do alvo de mamífero de rapamicina (mTOR)). WYE-354 é outro exemplo de um inibidor de mTOR catalítico (Yu K, *et al.* (2009). "Biochemical, Cellular, and In vivo Activity of Novel ATP-Competitive and Selective Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin". *Cancer Res.* 69(15): 6232-6240).

[0998] Os inibidores de mTOR úteis de acordo com a presente invenção também incluem pró-fármacos, derivados, sais farmaceuticamente aceitáveis ou análogos dos mesmos de qualquer um dos anteriores.

[0999] Os inibidores de mTOR, tal como RAD001, podem ser formulados para administração com base em métodos bem estabelecidos na técnica com base nas dosagens particulares descritas no presente documento. Em particular, a Patente US 6,004,973 (incorporada aqui a título de referência) proporciona exemplos de formulações utilizáveis com os inibidores de mTOR descritos aqui.

Avaliação de inibição de mTOR

[1000] mTOR fosforila a quinase P70 S6, ativando, assim, a quinase P70 S6 e permitindo que a mesma fosforile seu substrato. A extensão da inibição de mTOR pode ser expressa como a extensão de inibição de quinase P70 S6, por exemplo, a extensão de inibição de mTOR pode ser determinada pelo nível de diminuição da atividade de quinase P70 S6, por exemplo, pela diminuição da fosforilação de um substrato de quinase P70 S6. Pode-se determinar o nível de inibição de mTOR medindo a atividade de quinase P70 S6 (a capacidade da quinase P70

S6 de fosforilar um substrato), na ausência de inibidor, por exemplo, antes da administração do inibidor, e na presença de inibidor, ou após a administração de inibidor. O nível de inibição de quinase P70 S6 gera o nível de inibição de mTOR. Assim, se a quinase P70 S6 for inibida em 40%, a atividade de mTOR, conforme medido por atividade de quinase P70 S6, é inibida em 40%. A extensão ou o nível de inibição referido no presente documento é o nível médio de inibição ao longo do intervalo de dosagem. A título de exemplo, se o inibidor for administrado uma vez por semana, o nível de inibição é dado pelo nível médio de inibição ao longo desse intervalo, a saber, uma semana.

[1001] Boulay *et al., Cancer Res*, 2004, 64:252-61, incorporado aqui a título de referência, ensina um ensaio que pode ser usado para avaliar o nível de inibição de mTOR (referido aqui como ensaio de Boulay). Em uma modalidade, o ensaio se baseia na medição de atividade de quinase P70 S6 de amostras biológicas antes e depois da administração de um inibidor de mTOR, por exemplo, RAD001. As amostras podem ser recolhidas em instantes pré-selecionados após o tratamento com um inibidor de mTOR, por exemplo, 24, 48 e 72 horas após o tratamento. Amostras biológicas, por exemplo, de pele ou células mononucleares de sangue periférico (PBMCs), podem ser usadas. Os extratos de proteína total são preparados a partir das amostras. A quinase P70 S6 é isolada dos extratos de proteína por imunoprecipitação com o uso de um anticorpo que reconhece especificamente a quinase P70 S6. A atividade da quinase P70 S6 isolada pode ser medida em um ensaio de quinase *in vitro*. A quinase isolada pode ser incubada com substratos de subunidade ribossômica 40S (que é um substrato endógeno de quinase P70 S6) e gama-^{32}P sob condições que permitem a fosforilação do substrato. Então, a mistura de reação pode ser separada em um gel de SDS-PAGE, e o sinal de ^{32}P analisado com o uso de um PhosphorImager. Um sinal de ^{32}P correspondente ao tamanho da

subunidade ribossômica 40S indica substrato fosforilado e a atividade de quinase P70 S6. Aumentos e diminuições da atividade de quinase podem ser calculados quantificando a área e a intensidade do sinal de ^{32}P do substrato fosforilado (por exemplo, com o uso de ImageQuant, Molecular Dynamics), atribuindo valores unitários arbitrários ao sinal quantificado e comparando os valores após a administração com valores antes da administração ou com um valor de referência. Por exemplo, a inibição percentual de atividade de quinase pode ser calculada com a seguinte fórmula: 1-(valor obtido após a administração/valor obtido antes da administração) X 100. Conforme descrito acima, a extensão ou o nível de inibição referido no presente documento é o nível médio de inibição ao longo do intervalo de dosagem.

[1002] Métodos para a avaliação da atividade de quinase, por exemplo, atividade de quinase P70 S6, também são proporcionados em US 7,727,950, aqui incorporado a título de referência.

[1003] O nível de inibição de mTOR pode também ser avaliado por uma alteração na razão entre células T negativas para PD1 e positivas para PD1. As células T de sangue periférico podem ser identificadas como negativas ou positivas para PD1 por métodos conhecidos na técnica.

Inibidores de mTOR de Baixa Dose

[1004] Os métodos descritos no presente documento usam inibidores de mTOR de baixa dose de intensificação imune, doses de inibidores de mTOR, por exemplo, inibidores de mTOR alostéricos, incluindo rapálogos, tal como RAD001. Em contrapartida, os níveis de inibidor que inibem completamente ou quase completamente a via de mTOR são imunossupressores e são usados, por exemplo, para prevenir rejeição de transplante de órgão. Adicionalmente, altas doses de rapálogos que inibem completamente mTOR também inibem o

crescimento de células tumorais e são usados para tratar uma variedade de cânceres (Ver, por exemplo, "Antineoplastic effects of mammalian target of rapamycine inhibitors". Salvadori M. *World J Transplant*. 24 de outubro de 2012;2(5):74-83; "Current and Future Treatment Strategies for Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma: Role of mTOR Inhibition". Finn RS. *Liver Cancer*. novembro de 2012;1(3-4):247-256; "Emerging Signaling Pathways in Hepatocellular Carcinoma". Moeini A, Cornellà H, Villanueva A. *Liver Cancer*. setembro de 2012;1(2):83-93; "Targeted cancer therapy - Are the days of systemic chemotherapy numbered?" Joo WD, Visintin I, Mor G. Maturitas. 20 de setembro de 2013; "Role of natural and adaptive immunity in renal cell carcinoma response to VEGFR-TKIs and mTOR inhibitor". Santoni M, Berardi R, Amantini C, Burattini L, Santini D, Santoni G, Cascinu S. *Int J Cancer*. 2 de outubro de 2013).

[1005] A presente invenção é baseada, pelo menos em parte, na descoberta surpreendente de que doses de inibidores de mTOR bem abaixo daquelas usadas em cenários clínicos atuais tiveram um efeito superior no aumento de uma resposta imunológica em um sujeito e aumento na razão de células T negativas para PD-1/células T positivas para PD-1. Foi surpreendente que baixas doses de inibidores de mTOR, que produzem apenas inibição parcial de atividade de mTOR, tivessem capacidades para aprimorar efetivamente respostas imunológicas em sujeitos humanos e aumentar a razão de células T negativas para PD-1/células T positivas para PD-1.

[1006] Alternativa ou adicionalmente, sem pretender ficar restringido a qualquer teoria, se crê que uma baixa dose de intensificação imune de um inibidor de mTOR pode aumentar os números de células T virgens, por exemplo, pelo menos transientemente, por exemplo, em comparação com um sujeito não tratado. Alternativa ou adicionalmente, novamente sem pretender ficar

restringido a qualquer teoria, acredita-se que o tratamento com um inibidor de mTOR após uma quantidade suficiente de tempo ou dosagem suficiente resulta em um ou mais dos seguintes:
um aumento da expressão de um ou mais dos seguintes marcadores: $CD62L^{elevado}$, $CD127^{elevado}$, $CD27^{+}$ e BCL2, por exemplo, em células T de memória, por exemplo, precursores de células T de memória;
uma redução na expressão de KLRG1, por exemplo, em células T de memória, por exemplo, precursores de células T de memória; e
um aumento no número de precursores de células T de memória, por exemplo, células com qualquer uma ou uma combinação das seguintes características: $CD62L^{elevado}$ aumentado, $CD127^{elevado}$ aumentado, $CD27^{+}$ aumentado, KLRG1 reduzido e BCL2 aumentado;
e em que qualquer uma das alterações descritas acima ocorre, por exemplo, pelo menos transitoriamente, por exemplo, em comparação com um sujeito não tratado (Araki, K *et al.* (2009) *Nature* 460:108-112). Os precursores de células T de memória são células T de memória que são precoces no programa de diferenciação. Por exemplo, as células T de memória têm uma ou mais das seguintes características: $CD62L^{elevado}$ aumentado, $CD127^{elevado}$ aumentado, $CD27^{+}$ aumentado, KLRG1 reduzido e/ou BCL2 aumentado.

[1007] Em uma modalidade, a invenção refere-se a uma composição, ou forma de dosagem, de um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, um rapálogo, rapamicina, ou RAD001, ou um inibidor de mTOR catalítico, que, quando administrado em um regime de dosagem selecionado, por exemplo, uma vez ao dia ou uma vez por semana, está associado a: um nível de inibição de mTOR que não está associado à supressão imunológica completa ou significativa, mas está associado à intensificação da resposta imunológica.

[1008] Um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR

alostérico, por exemplo, um rapálogo, rapamicina, ou RAD001, ou um inibidor de mTOR catalítico, pode ser fornecido em uma formulação com liberação sustentada. Qualquer uma das composições ou formas de dosagem unitárias descritas no presente documento pode ser fornecida em uma formulação com liberação sustentada. Em algumas modalidades, uma formulação com liberação sustentada terá biodisponibilidade mais baixa que uma formulação com liberação imediata. Por exemplo, em modalidades, para obter um efeito terapêutico similar de uma formulação de liberação imediata, uma formulação com liberação sustentada terá de cerca de 2 a cerca de 5, cerca de 2,5 a cerca de 3,5 ou cerca de 3 vezes a quantidade de inibidor fornecida na formulação com liberação imediata.

[1009] Em uma modalidade, são fornecidas formas de liberação imediata, por exemplo, de RAD001, tipicamente usadas para uma administração por semana, que têm 0,1 a 20, 0,5 a 10, 2,5 a 7,5, 3 a 6 ou cerca de 5 mg por forma de dosagem unitária. Para administrações uma vez por semana, essas formulações com liberação imediata correspondem às formas com liberação sustentada, que têm, respectivamente, 0,3 a 60, 1,5 a 30, 7,5 a 22,5, 9 a 18 ou cerca de 15 mg de um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, rapamicina ou RAD001. Em modalidades, ambas as formas são administradas em uma base uma vez/semana.

[1010] Em uma modalidade, são fornecidas formas de liberação imediata, por exemplo, de RAD001, tipicamente usadas para uma administração por dia, que têm 0,005 a 1,5, 0,01 a 1,5, 0,1 a 1,5, 0,2 a 1,5, 0,3 a 1,5, 0,4 a 1,5, 0,5 a 1,5, 0,6 a 1,5, 0,7 a 1,5, 0,8 a 1,5, 1,0 a 1,5, 0,3 a 0,6 ou cerca de 0,5 mg por forma de dosagem unitária. Para administrações uma vez por dia, essas formas de liberação imediata correspondem às formas com liberação sustentada, que têm, respectivamente, 0,015 a 4,5, 0,03 a 4,5, 0,3 a 4,5, 0,6 a 4,5, 0,9 a 4,5,

1,2 a 4,5, 1,5 a 4,5, 1,8 a 4,5, 2,1 a 4,5, 2,4 a 4,5, 3,0 a 4,5, 0,9 a 1,8 ou cerca de 1,5 mg de um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, rapamicina ou RAD001. Para administrações uma vez por semana, essas formas de liberação imediata correspondem às formas de liberação sustentada, que têm, respectivamente, 0,1 a 30, 0,2 a 30, 2 a 30, 4 a 30, 6 a 30, 8 a 30, 10 a 30, 1,2 a 30, 14 a 30, 16 a 30, 20 a 30, 6 a 12 ou cerca de 10 mg de um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, rapamicina ou RAD001.

[1011] Em uma modalidade, são fornecidas formas de liberação imediata, por exemplo, de RAD001, tipicamente usadas para uma administração por dia, que têm 0,01 a 1,0 mg por forma de dosagem unitária. Para administrações uma vez por dia, essas formas de liberação imediata correspondem às formas de liberação sustentada, que têm, respectivamente, 0,03 a 3 mg de um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, rapamicina ou RAD001. Para administrações uma vez por semana, essas formas de liberação imediata correspondem às formas de liberação sustentada, que têm, respectivamente, 0,2 a 20 mg de um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, rapamicina ou RAD001.

[1012] Em uma modalidade, são fornecidas formas de liberação imediata, por exemplo, de RAD001, tipicamente usadas para uma administração por semana, que têm 0,5 a 5,0 mg por forma de dosagem unitária. Para administrações uma vez por semana, essas formas de liberação imediata correspondem às formas de liberação sustentada, que têm, respectivamente, 1,5 a 15 mg de um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR alostérico, por exemplo, rapamicina ou RAD001.

[1013] Conforme descrito acima, um alvo da via de mTOR é a

quinase P70 S6. Assim, as doses de inibidores de mTOR que são úteis nos métodos e composições descritos no presente documento são aquelas que são suficientes para atingir no máximo 80% de inibição de atividade de quinase P70 S6 em relação à atividade da quinase P70 S6 na ausência de um inibidor de mTOR, por exemplo, conforme medidas por um ensaio descrito no presente documento, por exemplo, o ensaio de Boulay. Em outro aspecto, a invenção fornece uma quantidade de um inibidor de mTOR suficiente para atingir no máximo 38% de inibição de atividade de quinase P70 S6 em relação à atividade de quinase P70 S6 na ausência de um inibidor de mTOR.

[1014] Em um aspecto, a dose de inibidor de mTOR útil nos métodos e composições da invenção é suficiente para atingir, por exemplo, quando administrada a um sujeito humano, 90 +/-5% (isto é, 85-95%), 89+/-5%, 88+/-5%, 87+/-5%, 86+/-5%, 85+/-5%, 84+/-5%, 83+/-5%, 82+/-5%, 81+/-5%, 80+/-5%, 79+/-5%, 78+/-5%, 77+/-5%, 76+/-5%, 75+/-5%, 74+/-5%, 73+/-5%, 72 +/-5%, 71 +/-5%, 70 +/-5%, 69 +/-5%, 68 +/-5%, 67 +/-5%, 66 +/-5%, 65 +/-5%, 64 +/-5%, 63 +/-5%, 62 +/-5%, 61 +/-5%, 60 +/-5%, 59 +/-5%, 58 +/-5%, 57 +/-5%, 56 +/-5%, 55 +/-5%, 54 +/-5%, 54 +/-5%, 53 +/-5%, 52 +/-5%, 51 +/-5%, 50 +/-5%, 49 +/-5%, 48 +/-5%, 47 +/-5%, 46 +/-5%, 45 +/-5%, 44 +/-5%, 43 +/-5%, 42 +/-5%, 41 +/-5%, 40 +/-5%, 39 +/-5%, 38 +/-5%, 37 +/-5%, 36 +/-5%, 35 +/-5%, 34 +/-5%, 33 +/-5%, 32 +/-5%, 31 +/-5%, 30 +/-5%, 29 +/-5%, 28 +/-5%, 27 +/-5%, 26 +/-5%, 25 +/-5%, 24 +/-5%, 23 +/-5%, 22 +/-5%, 21 +/-5%, 20 +/-5%, 19 +/-5%, 18 +/-5%, 17 +/-5%, 16 +/-5%, 15 +/-5%, 14 +/-5%, 13 +/-5%, 12 +/-5%, 11 +/-5%, ou 10 +/-5% de inibição de atividade de quinase P70 S6, por exemplo, como medido por um ensaio descrito aqui, por exemplo, o ensaio de Boulay.

[1015] A atividade de quinase P70 S6 em um sujeito pode ser medida usando métodos conhecidos na técnica, tais como, por exemplo, de acordo com os métodos descritos na Pat. U.S. 7.727.950,

por análise de imunocoloração de níveis de fosfoP70 S6K e/ou níveis de fosfoP70 S6 ou por ensaios de atividade de quinase *in vitro*.

[1016] Conforme usado no presente documento, o termo "cerca de" em referência a uma dose de inibidor de mTOR refere-se a uma variabilidade de até +/- 10% na quantidade de inibidor de mTOR, mas pode não incluir nenhuma variabilidade em relação à dose determinada.

[1017] Em algumas modalidades, a invenção fornece métodos que compreendem administrar a um sujeito um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor alostérico, por exemplo, RAD001, a uma dosagem dentro de um nível mínimo-alvo. Em algumas modalidades, o nível mínimo é significativamente mais baixo que os níveis mínimos associados aos regimes de dosagem usados em transplante de órgão e pacientes com câncer. Em uma modalidade, inibidor de mTOR, por exemplo, RAD001, ou rapamicina, é administrado para resultar em um nível mínimo que é menor que ½, 1/4, 1/10 ou 1/20 do nível mínimo que resulta em imunossupressão ou um efeito anticancerígeno. Em uma modalidade, o inibidor de mTOR, por exemplo, RAD001 ou rapamicina, é administrado para resultar em um nível mínimo que é menor que ½, 1/4, 1/10 ou 1/20 do nível mínimo fornecido na bula aprovada pelo FDA para uso em imunossupressão ou indicações anticancerígenas.

[1018] Em uma modalidade, um método revelado no presente documento compreende administrar a um sujeito um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor alostérico, por exemplo, RAD001, a uma dosagem que fornece um nível mínimo-alvo de 0,1 a 10 ng/mL, 0,1 a 5 ng/mL, 0,1 a 3 ng/mL, 0,1 a 2 ng/mL ou 0,1 a 1 ng/mL.

[1019] Em uma modalidade, um método revelado no presente documento compreende administrar a um sujeito um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor alostérico, por exemplo, RAD001, a uma dosagem que fornece um nível mínimo-alvo de 0,2 a 10 ng/mL, 0,2 a 5 ng/mL, 0,2 a 3 ng/mL, 0,2 a 2 ng/mL ou 0,2 a 1 ng/mL.

[1020] Em uma modalidade, um método revelado no presente documento compreende administrar a um sujeito um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor alostérico, por exemplo, RAD001, a uma dosagem que fornece um nível mínimo-alvo de 0,3 a 10 ng/mL, 0,3 a 5 ng/mL, 0,3 a 3 ng/mL, 0,3 a 2 ng/mL ou 0,3 a 1 ng/mL.

[1021] Em uma modalidade, um método revelado no presente documento compreende administrar a um sujeito um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor alostérico, por exemplo, RAD001, a uma dosagem que fornece um nível mínimo-alvo de 0,4 a 10 ng/mL, 0,4 a 5 ng/mL, 0,4 a 3 ng/mL, 0,4 a 2 ng/mL ou 0,4 a 1 ng/mL.

[1022] Em uma modalidade, um método revelado no presente documento compreende administrar a um sujeito um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor alostérico, por exemplo, RAD001, a uma dosagem que fornece um nível mínimo-alvo de 0,5 a 10 ng/mL, 0,5 a 5 ng/mL, 0,5 a 3 ng/mL, 0,5 a 2 ng/mL ou 0,5 a 1 ng/mL.

[1023] Em uma modalidade, um método revelado no presente documento compreende administrar a um sujeito um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor alostérico, por exemplo, RAD001, a uma dosagem que fornece um nível mínimo-alvo de 1 a 10 ng/mL, 1 a 5 ng/mL, 1 a 3 ng/mL ou 1 a 2 ng/mL.

[1024] Conforme usado no presente documento, o termo "nível mínimo" refere-se à concentração de um fármaco no plasma pouco antes da dose seguinte ou a concentração mínima de fármaco entre duas doses.

[1025] Em algumas modalidades, um nível mínimo-alvo de RAD001 está em uma faixa entre cerca de 0,1 e 4,9 ng/mL. Em uma modalidade, o nível mínimo-alvo está abaixo de 3 ng/mL, por exemplo, está entre 0,3 ou menos e 3 ng/mL. Em uma modalidade, o nível mínimo-alvo está abaixo de 3 ng/mL, por exemplo, está entre 0,3 ou menos e 1 ng/mL.

[1026] Em outro aspecto, a invenção pode utilizar um inibidor de

mTOR diferente de RAD001 em uma quantidade que está associada a um nível mínimo-alvo que é bioequivalente ao nível mínimo-alvo especificado para RAD001. Em uma modalidade, o nível mínimo-alvo para um inibidor de mTOR diferente de RAD001 é um nível que gera o mesmo nível de inibição de mTOR (por exemplo, conforme medido por um método descrito no presente documento, por exemplo, a inibição de P70 S6) que um nível mínimo de RAD001 descrito no presente documento.

Composições farmacêuticas: inibidores de mTOR

[1027] Em um aspecto, a presente invenção refere-se a composições farmacêuticas que compreendem um inibidor de mTOR, por exemplo, um inibidor de mTOR conforme descrito no presente documento, formulado para uso em combinação com células CAR descritas no presente documento.

[1028] Em algumas modalidades, o inibidor de mTOR é formulado para administração em combinação com um adicional, por exemplo, conforme descrito no presente documento.

[1029] Em geral, os compostos da invenção serão administrados em quantidades terapeuticamente eficazes, conforme descrito acima, por meio de qualquer um dos modos usuais e aceitáveis conhecidos na técnica, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos.

[1030] As formulações farmacêuticas podem ser preparadas usando procedimentos de dissolução e mistura convencionais. Por exemplo, a substância de fármaco em volume (por exemplo, um inibidor de mTOR ou forma estabilizada do composto (por exemplo, complexo com um derivado de ciclodextrina ou outro agente de complexação conhecido)) é dissolvida em um solvente adequado na presença de um ou mais dos excipientes descritos no presente documento. O inibidor de mTOR é tipicamente formulado em formas de dosagem farmacêuticas

para proporcionar uma dosagem facilmente controlável do fármaco e para dar ao paciente um produto elegante e facilmente manuseável.

[1031] Os compostos da invenção podem ser administrados como composições farmacêuticas por qualquer via convencional, em particular, por via entérica, por exemplo, via oral, por exemplo, na forma de comprimidos ou cápsulas, ou por via parenteral, por exemplo, na forma de soluções ou suspensões injetáveis, por via tópica, por exemplo, na forma de loções, géis, pomadas ou cremes, ou em uma forma nasal ou de supositório. Quando um inibidor de mTOR é administrado em combinação com (simultaneamente com ou separadamente de) outro agente, conforme descrito no presente documento, em um aspecto, ambos os componentes podem ser administrados pela mesma via (por exemplo, por via parenteral). Alternativamente, outro agente pode ser administrado por uma via diferente em relação ao inibidor de mTOR. Por exemplo, um inibidor de mTOR pode ser administrado por via oral, e o outro agente pode ser administrado por via parenteral.

LIBERAÇÃO SUSTENTADA

[1032] Os inibidores de mTOR, por exemplo, inibidores de mTOR alostéricos ou inibidores de mTOR catalíticos, revelados no presente documento podem ser fornecidos como formulações farmacêuticas como formas de dosagem sólidas orais que compreendem um inibidor de mTOR revelado no presente documento, por exemplo, rapamicina ou RAD001, que satisfazem os requisitos de estabilidade de produto e/ou têm propriedades farmacocinéticas favoráveis em relação aos comprimidos de liberação imediata (IR), tais como concentrações de pico plasmáticas médias reduzidas, variabilidade inter e intrapacientes reduzida na extensão da absorção do fármaco e da concentração de pico plasmática, razão C_{max}/C_{min} reduzida e/ou efeitos alimentícios reduzidos. As formulações farmacêuticas fornecidas podem permitir um

ajuste de dose mais preciso e/ou reduzir a frequência de eventos adversos, fornecendo, assim, tratamentos mais seguros para os pacientes com um inibidor de mTOR revelado no presente documento, por exemplo, rapamicina ou RAD001.

[1033] Em algumas modalidades, a presente revelação fornece formulações de liberação estendida estáveis de um inibidor de mTOR revelado no presente documento, por exemplo, rapamicina ou RAD001, que são sistemas de múltiplos particulados e podem ter camadas e revestimentos funcionais.

[1034] O termo "formulação de múltiplos particulados de liberação estendida" conforme usado no presente documento refere-se a uma formulação que possibilita a liberação de um inibidor de mTOR revelado no presente documento, por exemplo, rapamicina ou RAD001, durante um período de tempo estendido, por exemplo, durante pelo menos 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 horas. A formulação de liberação estendida pode conter matrizes e revestimentos produzidos a partir de excipientes especiais, por exemplo, conforme descrito no presente documento, que são formulados de uma maneira que torne o ingrediente ativo disponível durante um período de tempo estendido após a ingestão.

[1035] O termo "liberação estendida" pode ser usado de forma intercambiável com os termos "liberação sustentada" (SR) ou "liberação prolongada". O termo "liberação estendida" refere-se a uma formulação farmacêutica que não libera substância farmacêutica ativa imediatamente após a dosagem oral, mas durante um período estendido, em conformidade com a definição nas farmacopeias Ph. Eur. (7ª edição), monografia para comprimidos e cápsulas, e USP capítulo geral <1151> para formas de dosagem farmacêuticas. O termo "Liberação Imediata" (IR), conforme usado no presente documento, refere-se a uma formulação farmacêutica que libera 85% da substância farmacêutica ativa dentro de menos de 60 minutos em conformidade

com a definição do documento "Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms" (FDA CDER, 1997). Em algumas modalidades, o termo "liberação imediata" significa liberação de everolimus de comprimidos no período de tempo de 30 minutos, por exemplo, como medido no ensaio de dissolução descrito aqui.

[1036] As formulações de liberação estendida estáveis de um inibidor de mTOR revelado no presente documento, por exemplo, rapamicina ou RAD001, podem ser caracterizadas por um perfil de liberação *in vitro* com o uso de ensaios conhecidos na técnica, tais como um ensaio de dissolução conforme descrito no presente documento: um recipiente de dissolução cheio com 900 mL de tampão fosfato pH 6,8 contendo dodecilsulfato de sódio 0,2% a 37°C, e a dissolução é realizada com o uso de um método de pá a 75 rpm de acordo com o documento USP em conformidade com a monografia de teste USP 711, e Ph.Eur. Monografia de teste 2.9.3., respectivamente.

[1037] Em algumas modalidades, as formulações de liberação estendida estáveis de um inibidor de mTOR revelado no presente documento, por exemplo, rapamicina ou RAD001, liberam o inibidor de mTOR no ensaio de liberação *in vitro* de acordo com as seguintes especificações de liberação:

0,5 h: <45% ou <40, por exemplo, <30%

1 h: 20-80%, por exemplo, 30-60%

2 h: >50% ou >70%, por exemplo, >75%

3 h: >60% ou >65%, por exemplo, >85%, por exemplo, >90%.

[1038] Em algumas modalidades, formulações de liberação estendida estáveis de um inibidor de mTOR revelado no presente documento, por exemplo, rapamicina ou RAD001, liberam 50% do inibidor de mTOR não antes de 45, 60, 75, 90, 105 min ou 120 min no ensaio de dissolução *in vitro*.

Métodos de Administração de Biopolímero

[1039] Em algumas modalidades, uma ou mais células que expressam CAR, conforme revelado no presente documento, podem ser administradas ou distribuídas ao sujeito por meio de um arcabouço de biopolímero, por exemplo, um implante de biopolímero. Os arcabouços de biopolímero podem sustentar ou intensificar a distribuição, a expansão e/ou a dispersão das células que expressam CAR descritas no presente documento. Um arcabouço de biopolímero compreende um polímero biocompatível (por exemplo, não induz substancialmente uma resposta inflamatória ou imunológica) e/ou biodegradável que pode ser de ocorrência natural ou sintético.

[1040] Os exemplos de biopolímeros adequados incluem, porém sem limitação, ágar, agarose, alginato, alginato/cimento de fosfato de cálcio (CPC), beta-galactosidase (β-GAL), (1,2,3,4,6-penta-acetil-a-D-galactose), celulose, quitina, quitosana, colágeno, elastina, gelatina, colágeno de ácido hialurônico, hidroxiapatita, poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidróxi-hexanoato) (PHBHHx), poli(láctido), poli(caprolactona) (PCL), poli(láctido-co-glicólido) (PLG), óxido de polietileno (PEO), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), óxido de polipropileno (PPO), álcool polivinílico (PVA), seda, proteína de soja e isolado de proteína de soja, sozinhos ou em combinação com qualquer outra composição polimérica, em qualquer concentração e em qualquer razão. O biopolímero pode ser aumentado ou modificado com moléculas promotoras de adesão ou migração, por exemplo, peptídeos miméticos de colágeno que se ligam ao receptor de colágeno de linfócitos e/ou moléculas estimuladoras para intensificar a distribuição, a expansão ou a função, por exemplo, atividade anticancerígena, das células a serem distribuídas. O arcabouço de biopolímero pode ser um injetável, por exemplo, um gel ou uma composição semissólida ou sólida.

[1041] Em algumas modalidades, as células que expressam CAR

descritas no presente documento são inoculadas no arcabouço de biopolímero antes da distribuição ao sujeito. Em modalidades, o arcabouço de biopolímero compreende, ainda, um ou mais agentes terapêuticos adicionais descritos no presente documento (por exemplo, outra célula que expressa CAR, um anticorpo ou uma molécula pequena) ou agentes que intensificam a atividade de uma célula que expressa CAR, por exemplo, incorporados ou conjugados nos biopolímeros do arcabouço. Em modalidades, o arcabouço de biopolímero é injetado, por exemplo, por via intratumoral, ou cirurgicamente implantado no tumor ou dentro de uma proximidade do tumor suficiente para mediar um efeito antitumoral. Exemplos adicionais de composições de biopolímeros e métodos para sua administração são descritos em Stephan *et al.*, *Nature Biotechnology*, 2015, 33:97-101; e WO2014/110591.

Composições Farmacêuticas e Tratamentos

[1042] Composições farmacêuticas da presente invenção podem compreender uma célula expressando CAR, por exemplo, uma pluralidade de células expressando CAR, como descrito aqui, em combinação com um ou mais transportadores, diluentes ou excipientes farmacêutica ou fisiologicamente aceitáveis. Tais composições podem compreender tampões, tais como solução salina tamponada neutra, solução salina tamponada com fosfato e semelhantes; carboidratos, tais como glicose, manose, sacarose ou dextranos, manitol; proteínas; polipeptídeos ou aminoácidos como glicina; antioxidantes; agentes quelantes, tais como EDTA ou glutationa; adjuvantes (por exemplo, hidróxido de alumínio); e conservantes. As composições da presente invenção são em um aspecto formuladas para administração intravenosa.

[1043] As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas de uma maneira apropriada à doença a ser tratada

(ou prevenida). A quantidade e a frequência da administração serão determinadas por fatores como a condição do paciente e o tipo e a gravidade da doença do paciente, embora dosagens apropriadas possam ser determinadas por ensaios clínicos.

[1044] Em uma modalidade, a composição farmacêutica está substancialmente desprovida, por exemplo, não há níveis detectáveis de um contaminante, por exemplo, selecionado do grupo consistindo em endotoxina, micoplasma, lentivírus competente para replicação (RCL), p24, ácido nucleico de VSV-G, HIV gag, esférulas revestidas com anti-CD3/anti-CD28 residual, anticorpos de camundongo, soro humano reunido, albumina de soro bovino, soro bovino, componentes do meio de cultura, componentes de células de empacotamento ou plasmídeos de vetores, uma bactéria e um fungo. Em uma modalidade, a bactéria é pelo menos uma selecionada do grupo consistindo em *Alcaligenes faecalis, Candida albicans, Escherichia coli, Haemophilus influenza, Neisseria meningitidis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes* do grupo A.

[1045] Quando é indicada "uma quantidade imunologicamente eficaz", "uma quantidade eficaz antitumoral", "uma quantidade eficaz inibidora de tumores" ou "quantidade terapêutica", a quantidade precisa das composições da presente invenção a ser administrada pode ser determinada por um médico considerando diferenças individuais na idade, peso, tamanho do tumor, extensão da infecção ou metástase, e condição do paciente (sujeito). Pode ser geralmente afirmado que uma composição farmacêutica compreendendo as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) descritas aqui pode ser administrada a uma dosagem de 10^4 até 10^9 células/kg de peso do corpo, em alguns casos 10^5 até 10^6 células/kg de peso do corpo, incluindo todos os valores inteiros dentro desses intervalos.

Composições de células T também podem ser administradas múltiplas vezes a estas dosagens. As células podem ser administradas usando técnicas de infusão que são habitualmente conhecidas em imunoterapia (ver, por exemplo, Rosenberg *et al., New Eng. J. of Med*. 319:1676, 1988).

[1046] Em certos aspectos, pode ser desejado administrar células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) ativadas a um sujeito e então subsequentemente recolher novamente sangue (ou efetuar uma aférese), ativar células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) daquele de acordo com a presente invenção e infundir novamente no paciente estas células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) ativadas e expandidas. Este processo pode ser realizado múltiplas vezes a cada período de algumas semanas. Em certos aspectos, células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) podem ser ativadas a partir de recolhas de sangue desde 10 cc até 400 cc. Em certos aspectos, células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) são ativadas a partir de recolhas de sangue de 20 cc, 30 cc, 40 cc, 50 cc, 60 cc, 70 cc, 80 cc, 90 cc ou 100 cc.

[1047] A administração das composições em questão pode ser efetuada de qualquer maneira conveniente, incluindo por inalação de aerossol, injeção, ingestão, transfusão, implantação ou transplantação. As composições aqui descritas podem ser administradas a um paciente transarterialmente, subcutaneamente, intradermicamente, intratumoralmente, intranodalmente, intramedularmente, intramuscularmente, por injeção intravenosa (i.v.) ou intraperitonealmente. Em um aspecto, as composições de células T da presente invenção são administradas a um paciente por injeção intradérmica ou subcutânea. Num aspecto, as composições de células T da presente invenção são administradas por injeção i.v. As

composições de células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) podem ser injetadas diretamente em um tumor, gânglio linfático ou sítio da infecção.

[1048] Em um aspecto exemplificativo particular, sujeitos podem ser submetidos a leucaférese, em que leucócitos são recolhidos, enriquecidos ou depletados *ex vivo* para selecionar e/ou isolar as células de interesse, por exemplo, células T. Estes isolados de células T podem ser expandidos por métodos conhecidos na técnica e tratados de modo que um ou mais construtos de CAR da invenção podem ser introduzidos, desse modo criando uma célula T CAR da invenção. Os sujeitos necessitados podem ser subsequentemente submetidos a tratamento-padrão com quimioterapia de dose elevada seguido de transplantação de células-tronco do sangue periférico. Em certos aspectos, após ou de modo concorrente com o transplante, os sujeitos recebem uma infusão das células T CAR expandidas da presente invenção. Em um aspecto adicional, células expandidas são administradas antes ou após cirurgia.

[1049] A dosagem dos tratamentos acima a ser administrada a um paciente irá variar com a natureza precisa da condição sendo tratada e o recebedor do tratamento. O escalamento de dosagens para administração humana pode ser realizado de acordo com práticas aceites na técnica. A dose para CAMPATH, por exemplo, irá geralmente se situar na gama de 1 até cerca de 100 mg para um paciente adulto, habitualmente administrada diariamente durante um período entre 1 e 30 dias. A dose diária preferencial é 1 até 10 mg por dia apesar de, em alguns casos, doses maiores até 40 mg por dia poderem ser usadas (descrito na Patente U.S. Nº. 6,120,766).

[1050] Em uma modalidade, o CAR é introduzido em células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK), por exemplo, usando transcrição *in vitro*, e o sujeito (por exemplo, humano) recebe

uma administração inicial de células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR da invenção, e uma ou mais administrações subsequentes das células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR da invenção, em que a uma ou mais administrações subsequentes são administradas menos de 15 dias, por exemplo, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 ou 2 dias após a administração anterior. Em uma modalidade, mais do que uma administração das células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR da invenção são administradas ao sujeito (por exemplo, humano) por semana, por exemplo, 2, 3 ou 4 administrações das células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR da invenção são administradas por semana. Em uma modalidade, o sujeito (por exemplo, sujeito humano) recebe mais do que uma administração das células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR por semana (por exemplo, 2, 3 ou 4 administrações por semana) (também referido aqui como ciclo), seguido de uma semana sem administrações de células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR, e então uma ou mais administrações adicionais das células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR (por exemplo, mais do que uma administração das células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR por semana) são administradas ao sujeito. Em outra modalidade, o sujeito (por exemplo, sujeito humano) recebe mais do que um ciclo de células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR, e o tempo entre cada ciclo é menor do que 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 ou 3 dias. Em uma modalidade, as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR são administradas em dias alternados para 3 administrações por semana. Em uma modalidade, as células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) CAR da invenção são administradas durante pelo menos duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito ou mais semanas.

[1051] Em um aspecto, células expressando CAR da presente invenção são geradas usando vetores virais lentivirais, tais como lentivírus. Células, por exemplo, CARTs, geradas desse modo exibirão expressão estável de CAR.

[1052] Em um aspecto, células expressando CAR, por exemplo, CARTs, são geradas usando um vetor viral tal como um vetor gama-retroviral, por exemplo, um vetor gama-retroviral descrito aqui. CARTs geradas usando estes vetores podem ter expressão estável de CAR.

[1053] Em um aspecto, CARTs expressam transientemente vetores CAR durante 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 dias após a transdução. A expressão transiente de CARs pode ser efetuada por administração de vetores RNA CAR. Em um aspecto, o RNA CAR é transduzido na célula T por eletroporação.

[1054] Uma questão potencial que pode surgir em pacientes sendo tratados usando células efetoras imunes (por exemplo, células T, células NK) expressando transientemente CAR (particularmente com CARTs contendo scFv murino) é anafilaxia após múltiplos tratamentos.

[1055] Sem ficar restringido por esta teoria, se crê que tal resposta anafilática poderá ser causada pelo fato de um paciente desenvolver uma resposta anti-CAR humoral, isto é, anticorpos anti-CAR tendo um isótipo anti-IgE. Se crê que células produtoras de anticorpos em um paciente sofrem uma troca de classe do isótipo IgG (que não causa anafilaxia) para o isótipo IgE quando há uma pausa de dez até quatorze dias de exposição ao antígeno.

[1056] Se um paciente estiver em risco elevado de gerar uma resposta de anticorpos anti-CAR durante a terapia com CAR transiente (como os gerados por transduções de RNA), pausas na infusão de CART não devem durar mais do que dez até quatorze dias.

EXEMPLOS

[1057] A invenção é adicionalmente descrita em detalhe com

referência aos seguintes exemplos experimentais. Estes exemplos são proporcionados somente para propósitos ilustrativos, e não se destinam a ser limitadores salvo se especificado de outro modo. Assim, a invenção não deve de modo nenhum ser considerada como estando limitada aos seguintes exemplos, ao invés, deve ser considerada como abrangendo quaisquer e todas as variações que se tornarem evidentes em resultado dos ensinamentos proporcionados aqui.

Exemplo 1: Disrupção da Metilcitosina Dioxigenase *TET2* Promove a Eficácia Terapêutica de células T visando CD19

Sumário

[1058] Imunoterapia de câncer baseada em redirecionamento genético de células T do paciente pode ser usada com êxito para tratar leucemias e linfomas de células B. Nesta abordagem, o genoma de células T é modificado por integração de vetores virais ou transpósons codificando receptores de antígenos quiméricos (CARs) que dirigem o reconhecimento e morte de células tumorais. No entanto, o êxito desta abordagem pode por vezes ser limitado pela extensão da expansão e persistência das células manipuladas, focando a atenção em mecanismos de direcionamento da proliferação, função efetora e sobrevivência de células T CAR. Este Exemplo proporciona discernimentos mecanísticos de estudos de um paciente com leucemia linfocítica crônica (CLL) que foi tratado com células T CAR que visam a proteína CD19 em células B. Por infusão de células T CAR foi evidente atividade antitumoral no sangue periférico, gânglios linfáticos e medula óssea, e foi acompanhada de remissão completa. Inesperadamente, no pico da resposta antitumoral, 94% das células T CAR foram originadas de um único clone onde a inserção mediada pelo vetor lentiviral do transgene CAR procedeu à disrupção do gene codificando a metilcitosina dioxigenase TET2. Análise adicional revelou uma nova mutação hipomórfica no segundo alelo de TET2 deste paciente. Células

com deficiência bialélica de TET2 exibiram hidroximetilação de DNA reduzida e um perfil epigenético consistente com diferenciação e função alteradas de células T. Na expansão do pico, células T CAR com TET2 com disrupção exibiram um fenótipo de memória central, que difere de pacientes típicos que exibiram respostas duráveis de longo prazo que, ao invés, foram caracterizadas por diferenciação tardia memória/efetora. O silenciamento experimental de TET2 recapitulou o efeito da perda de TET2 no destino de linfócitos T CAR e potência antitumoral. Os resultados indicam que a inibição de TET2 neste paciente promoveu a proliferação de células T e intensificou a função efetora, e que a progênie de uma única célula T CAR induziu remissão. Estes dados enfatizam a importância de TET2 na determinação do destino de células T humanas e sugerem que a modificação da via do TET2 pode ser usada para intensificar o tratamento com células T geneticamente redirecionadas.

Introdução

[1059] O sistema imune humano evoluiu para reconhecer e eliminar células expressando antígenos estranhos. Apesar de células malignas poderem gerar neo – "não auto" epítopos que podem induzir imunidade antitumoral por células T, estas respostas são frequentemente limitadas por tolerância de células T ao tumor. Uma abordagem para ultrapassar a tolerância consiste em redirecionar geneticamente linfócitos T para atacarem células cancerígenas. Células T podem ser transduzidas com genes que codificam receptores de antígenos quiméricos (CARs) compostos por frações de ligação derivadas de anticorpos ligadas ao domínio intracelular da cadeia CD3ζ e endodomínios coestimuladores opcionais (Gross, G., Waks, T. & Eshhar, Z. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86, 10024-10028 (1989); Irving, B. A. & Weiss, A. *Cell* 64, 891-901 (1991)). Um antígeno tumoral é a proteína CD19, que se encontra em cânceres derivados de

células B e tem sido visada em imunoterapia bem-sucedida. Por exemplo, células T CAR autólogas anti-CD19 que incorporam o domínio de sinalização coestimulador 4-1BB (CTL019) podem ser usadas para tratar malignidades de células B, tais como CLL e leucemia linfocítica aguda (ALL). Em alguns casos, o êxito da terapia com células T CAR pode depender de ser alcançada uma enxertia suficiente e sobrevivência de células transferidas de modo adoptivo *in vivo*. Foi observado que indivíduos com CLL que respondem a terapia com CTL019 podem ter uma expansão e persistência significativas de células T CAR após infusão, ao passo que em pacientes não respondedores, estas células exibem capacidade proliferativa diminuída. Sem pretender ficar restringido pela teoria, se crê que os mecanismos envolvidos na superior potência antitumoral e sobrevivência de longa duração de células T CAR em pacientes respondedores incluem, por exemplo, fatores intrínsecos e extrínsecos a células T. Uma vez que apenas um subconjunto de pacientes com CLL apresentam níveis terapêuticos de expansão de células T CAR (Porter, D. L. *et al.*, *Science translational medicine* **7**, 303ra139, doi:10.1126 (2015)), entender os determinantes da proliferação e persistência bem-sucedidas em casos de remissão durável é de importância crítica.

[1060] Neste Exemplo foi avaliado um paciente com leucemia linfocítica crônica (CLL) que foi tratado com células T CAR que visam a proteína CD19 em células B. Por infusão de células T CAR foi evidente atividade antitumoral no sangue periférico, gânglios linfáticos e medula óssea, e foi acompanhada de remissão completa. No pico da resposta antitumoral, 94% das células T CAR foram originadas de um único clone onde a inserção mediada pelo vetor lentiviral do transgene CAR procedeu à disrupção do gene codificando a metilcitosina dioxigenase TET2. Células albergando esta inserção exibiram hidroximetilação de

DNA reduzida e aquisição de um perfil epigenético consistente com diferenciação alterada de células T. Na expansão do pico, células T CAR com a inserção *TET2* exibiram um fenótipo de memória inicial, que difere de pacientes típicos com respostas duráveis de longo prazo que, ao invés, são caracterizadas por diferenciação de memória tardia. O silenciamento experimental de *TET2* em células T doadoras saudáveis recapitulou o efeito de disrupção de *TET2* mediada por integração no destino de linfócitos T CAR. Se concluiu que a atividade reduzida de TET2, por exemplo, disrupção bialélica, estava associada a mutagênese de inserção que promoveu a proliferação de células T, e que a progênie de uma única célula T CAR induziu remissão neste paciente, isto é, referido aqui como paciente 10. Estes dados enfatizam a importância de *TET2* na diferenciação de células T e sugerem que a modificação da via do TET2 pode ser útil para intensificar o tratamento com células T geneticamente redirecionadas.

Resultados

[1061] Um homem com setenta e oito anos de idade com CLL avançado que progrediu através de múltiplos regimes de quimioterapia e tratamento biológico (Paciente 10; Tabela 6) foi inscrito em um ensaio clínico para terapia com CTL019 (NCT01029366). O paciente foi submetido a duas transferências adotivas de $3,75 \times 10^8$ e $5,61 \times 10^8$ células CTL019 autólogas, separadas por dois meses. Após a primeira infusão de dose dividida de células T CAR, se tornou persistentemente febril. Não foi identificada nenhuma fonte de infecção. O Paciente 10 foi diagnosticado com síndrome de liberação de citocinas (CRS) e recebeu terapia de bloqueio de receptores interleucina (IL)-6, após o qual os sinais e sintomas de CRS se resolveram rapidamente. O Paciente 10 continuou a exibir progressão na sua adenopatia volumosa e infiltração extensa na medula óssea com CLL seis semanas depois de receber a sua primeira dose de células T CAR. A maior parte dos pacientes que

respondem ao tratamento com CTL019 exibem proliferação rápida de células T concomitante com CRS e uma redução sustentada da carga tumoral no primeiro mês de infusão, ver, por exemplo, Porter, D. L. *et al. Science translational medicine* 7, 303ra139, (2015), e tal não ocorreu no Paciente 10 (FIGURAS 1A-1C).

Tabela 6. Características de referência do Paciente 10

Paciente	Idade/Sexo	Características do Tumor CLL	Envolvimento de CLL na Referência	Terapias Anteriores
10	78/Masculino	Deleção de ATM (del); del11q; del17p	80% de medula; adenopatia volumosa com a maior massa no mesentério medindo 13,5 x 6,8 cm	- Rituxan-CVP* ×6 ciclos - Rituxan Isoladamente - Fludarabina/Rituxan; Excelente Resposta Parcial - Clorambucil; Progressão - Bendamustina; Progressão ×1 ciclo - CHOP** ×8 ciclos - PCR^ com progressão estável até ligeira em PET/CT# 2 semanas mais tarde - Pentastatina/Citoxan pré-CTL019

*ciclofosfamida, vincristina e prednisolona

**ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona

^pentostatina, rituximab e ciclofosfamida

#tomografia por emissão de pósitrons–tomografia computorizada

[1062] Uma vez que havia a preocupação de o bloqueio inicial da sinalização mediada por IL-6 poder ter diminuído a resposta deste paciente a terapia com células T CAR, foi administrada uma segunda dose do produto celular (5,61 × 10^8 células T CAR, 70 dias após a

primeira infusão). As infusões foram novamente complicadas por CRS manifestada por febres altas, hipotensão e hipoxia, que se resolveram passados vários dias sem intervenção. A avaliação da sua medula óssea um mês mais tarde revelou infiltração extensa persistente de CLL e varreduras de tomografia computorizada (CT) exibiram melhorias mínimas em adenopatia extensa. Aproximadamente dois meses após a segunda infusão, a expansão de células CTL019 alcançou o máximo no sangue periférico, seguido de contração durante os dias e semanas seguintes (Figura 1A). O crescimento de células CTL019 ocorreu no compartimento de células T CD8+, que é típico em pacientes com CLL que respondem a esta terapia (Figura 2 e Figura 13). Esta resposta foi acompanhada de CRS de alto grau que requereu intervenção clínica, com níveis elevados em circulação de interferon (IFN)-γ, fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), IL-6, IL-8 e IL-10 (Figura 1B). Ao mesmo tempo, e coincidente com o surgimento de febres altas, o paciente exibiu eliminação rápida de células CLL (Figura 1C). O sequenciamento de geração seguinte de produtos de rearranjo no lócus de cadeia pesada de imunoglobulina (IGH), que permite seguir o clone leucêmico, mostrou uma redução de um log na carga tumoral aos 51 dias após a segunda infusão, com erradicação completa deste clone do sangue um mês mais tarde (Tabela 7). Varreduras de CT mostraram melhoria dramática na adenopatia mediastinal e axilar (69% de alteração; Figura 1D). Seis meses após a segunda infusão de células CTL019, o Paciente 10 alcançou uma resposta completa sem evidência de CLL na sua medula óssea (Tabela 7) e resolução de toda a adenopatia anormal (Figura 1D). A sua avaliação de seguimento de longa duração mais recente (>4,2 anos após infusão de células CTL019) revelou a presença de células T CAR no sangue periférico, aplasia decorrente de células B (Figura 14A-14C) e nenhuma evidência de doença em circulação ou infiltração na medula. Populações de células

imunes adicionais no sangue apresentaram uma frequência normal, sem sinais observados de anormalidades linfoproliferativas (Figura 14A-14C). A remissão completa tem-se prolongado durante mais de cinco anos no momento deste Exemplo.

Tabela 7. Carga tumoral avaliada por análise de sequenciamento profundo de IgH de sangue periférico e medula óssea do Paciente 10

	Informações das Amostras		Avaliação do Repertório de IgH						Clone Tumoral	
Tipo de Amostra	Primeira Infusão[1]	Segunda Infusão[2]	Entropia[3]	Clonalidade[4]	Frequência Máx (%)[5]	Rearranjos Genéticos[6]	Fração de Nucleadas[7]	# Estimado de Genomas[8]	Redução Log (Primeira Infusão)[9]	Redução Log (Segunda Infusão)[10]
Sangue Periférico	-29		0,078583	0,990387	99,4	110710	0,343804	109271		
	14		0,067824	0,991416	99,46	157699	0,321995	156371	0,028	
	28		0,164639	0,967638	98,13	10303	0,025852	10034	1,124	
	63	-7	0,154459	0,973519	98,33	60725	0,11781	59601	0,465	
	69	-1	0,149261	0,971558	98,31	47691	0,132377	46809	0,415	
	84	14	0,152248	0,97316	98,34	115697	0,176816	113715	0,289	-0,176
	121	51	0,096938	0,978857	98,93	5126	0,014364	5011	1,379	0,965
	147	77	1,479932	0,260034	15,07	22	0	0	5,499	5,084
	259	189	2,613258	0,175609	14,98	40	0	0	5,532	5,117
	351	281	2,613371	0,213297	15,02	60	0	0	5,532	5,117
	526	456	2,278436	0,240522	16,07	39	0	0	5,503	5,088
	619	549	1,829257	0,348405	13,84	54	0	0	5,491	5,076
	710	640	NA	NA	38,33	12	0	0	5,528	5,113
	1177	1107	2,611971	0,213718	12,09	69	0	0	5,479	5,065
Medula Óssea	101	31	0,015523	0,997597	99,79	139042	0,301654	138663	NA	
	442	372	2,336592	0,167689	11,21	31	0	0	5,458	
	801	731	1,351141	0,32443	17,71	16	0	0	5,247	

[1]Dia relativo à primeira infusão; [2]Dia relativo à segunda infusão; [3]Entropia de Shannon, uma medida da forma da distribuição das contagens de leituras com uma entropia baixa designando uma composição de amostra clonal; [4]Clonalidade = 1-(entropia/log2 rearranjos únicos produtivos). A clonalidade varia entre 0-1, com 1 designando uma amostra clonal e 0 uma policlonal; [5]Frequência máxima para cada amostra; [6]O número de rearranjos únicos de IgH; [7]A proporção do clone leucêmico perfaz a massa genômica total de todas as células B de entrada; [8]O número estimado de genomas (ou células) diploides com este rearranjo de leucemia; [9]Redução Log10 do clonótipo leucêmico relativamente à amostra de referência; [10]Redução Log10 relativamente à amostra de referência da segunda infusão; NA, Não disponível

[1063] Em seguida, a arquitetura clonal do repertório de células T em células CTL019 foi examinada antes do tratamento e após transferência adotiva. O sequenciamento profundo do repertório de receptores de células T beta revelou que células CTL019 CD8+ pré-infundidas e o compartimento de células T CD8+ um mês após a infusão eram policlonais, com múltiplos clonótipos TCRVβ distintos similares entre as amostras (Figura 3; Figura 4A). Aproximadamente dois meses após a segunda infusão, um clone TCRVβ5.1+ que dominou a população de células CTL019 estava presente a mais do que 50 por cento dos linfócitos T CD8+ totais no sangue periférico (Figuras 4A-4B). Análise subsequente revelou que 94 por cento do repertório de células T CAR CD8+ consistiu neste único clone que não foi detectado no momento da transferência ou no mês seguinte após a segunda infusão (Figura 4C). Após a erradicação do tumor, a expansão de células TCRVβ5.1+ declinou, coincidente com a cinética do decaimento de células T CAR (Figura 4D). Assim, a leucemia foi eliminada neste paciente principalmente pela progênie de uma única célula T CAR que demonstrou expansão *in vivo* massiva.

[1064] Para determinar o mecanismo subjacente à superior capacidade proliferativa e eficácia antitumoral desta população clonal, foram examinados sítios de integração lentiviral em sangue periférico ou células T CD8+ CAR+ após transferência adotiva e no produto de células com transdução de CAR antes da infusão. Uma vez que DNA lentiviral fica integrado em muitos sítios do genoma humano, o sequenciamento de sítios aceptores de integração pode ser usado para seguir a proliferação de clones de células e investigar potencial mutagênese de inserção.

[1065] A amostragem longitudinal de amostras de sangue do Paciente 10 revelou um clone de célula com um sítio de integração no íntron 9 de *TET2*, que foi expandido em células T CAR no pico da

atividade clínica e não em instantes anteriores (Figura 5A). Este grau elevado de dominância clonal não foi observado até à data em nenhum paciente tratado com células T direcionadas para CD19. Em CLL e ALL, o acúmulo de células T CAR *in vivo* resulta tipicamente da expansão de um repertório diversificado policlonal ou pauciclonal dentro da população de células T transduzidas. Células com integrantes *TET2* exibiram persistência de longa duração (Figura 5A) e estavam presentes no sangue periférico a uma abundância relativa de 14% aos 4,2 anos após a infusão (Figura 11A). A população clonal se contraiu ao longo do tempo e aparentou estar sob controle homeostático, sem sinais de ter ocorrido oncogênese de inserção (Figuras 14A-14C).

[1066] *TET2* é um regulador importante da formação de células sanguíneas e a haploinsuficiência ou deleção deste gene desempenha um papel na hematopoiese clonal normal (Busque, L. *et al. Nature genetics* 44, 1179-1181, doi:10.1038/ng.2413 (2012)) bem como no início de linfoma e leucemia, incluindo malignidades associadas ao vírus linfotrópico-T humano de tipo 1 (HTLV-1) e de surgimento natural (Yeh, C. H. *et al. Molecular cancer* 15, 15, doi:10.1186/s12943-016-0500-z (2016)). Não obstante a inativação de *TET2* poder contribuir para a autorrenovação aumentada de células-tronco hematopoiéticas e progenitoras, é pouco frequente que conduza a oncogênese clara, sugerindo que mutações genéticas adicionais são requeridas para transformação maligna completa (Zang, S. *et al. The Journal of clinical investigation* 127, 2998-3012, doi:10.1172/JCI92026 (2017)). A análise de populações de RNA de TET2 poliadeniladas mostrou o aparecimento de novos RNAs quiméricos que sofreram encadeamento a partir do éxon 9 *TET2* para o vetor e terminaram, truncando a proteína codificada (Figuras 5B, 6A e 6B). Apesar de ser possível que a expressão específica em células T CAR de mRNA de TET2 de fusão truncado e correspondente proteína possa ter um efeito negativo dominante na

atividade de TET2 normal, foi demonstrado que mutantes de TET2 não suprimem a função da proteína de tipo selvagem e consequentemente não exibem características negativas dominantes. Adicionalmente, avaliações de mutações de TET2 *in vitro* e *in vivo* apontam consistentemente para um fenótipo perda-de-função.

[1067] Para determinar se a disrupção monoalélica de TET2 por integração lentiviral foi maioritariamente responsável por este grau sem precedentes de proliferação clonal de células T CAR, sequenciamos células T CD8+ CAR+ (com disrupção de TET2 por integração lentiviral) e CAR- deste sujeito e examinamos genes envolvidos em malignidades hematológicas ou lesões precursoras. Em ambas as amostras estava presente uma variante de sentido trocado no aminoácido 1879 (éxon 11) no domínio catalítico de TET2, convertendo o resíduo de tipo selvagem, ácido glutâmico, em glutamina (Figura 11C). De modo notável, variações genéticas em TET2 envolvendo uma alteração da sequência de aminoácidos na posição 1879 de ácido glutâmico em lisina, ácido aspártico ou alanina foram associadas a neoplasmas mielodisplásicos-mieloproliferativos. A mutação c.5635C estava presente no alelo de TET2 sem o transgene de CAR integrado, pois esse cromossomo continha a sequência de referência de tipo selvagem (c.5635G). Não foram encontradas outras mutações no painel de 67 genes adicionais.

[1068] *TET2* codifica metilcitosina dioxigenase, uma enzima que catalisa a conversão de 5-metilcitosina (5mC) em 5-hidroximetilcitosina (5hmC), desse modo mediando a desmetilação de DNA (Tahiliani, M. *et al. Science* 324, 930-935 (2009); Iyer, L. M., *et al. Cell Cycle* 8, 1698-1710 (2009)). A metilação na posição C5 de citosina normalmente reprime a transcrição e, portanto, é esperado que a desmetilação ative a expressão genética. A importância funcional da mutação E1879Q foi interrogada usando plasmídeos codificando TET2 de tipo selvagem ou

esta variante de TET2 que foram transientemente transfectados em células T HEK293. A análise de DNA genômico isolado destas células usando coloração "dot" revelou que E1879Q trava a oxidação em 5-hmC, com uma redução significativa da formação de 5-fC e 5-caC (Figura 11D). Tal contrastou com células nas quais não ocorreu oxidação de 5-mC devido à introdução de um TET2 cataliticamente inativo (HxD) (Figura 11D). A sobre-expressão uniforme da proteína TET2 foi verificada por transferência Western de lisados celulares (Figura 11D). Para confirmar estas descobertas ao nível genômico, DNA de células transfectadas foi degradado em componentes nucleosídicos que foram analisados usando cromatografia líquida–espectrometria de massa em tandem. De fato, células sobre-expressando E1879Q exibiram uma redução de duas vezes na produção de 5-fC e 5-caC em comparação com o seu correspondente de tipo selvagem (Figura 11E). Estas descobertas suportam a noção de que o alelo de TET2 que não sofreu disrupção por integração lentiviral em células T CD8+ CAR clonalmente expandidas do Paciente 10 era hipomórfico.

[1069] Células T CD8+ Vβ5.1+ CAR+ com disrupção bialélica de *TET2 ex vivo* exibiram menores níveis totais de 5hmC em comparação com as suas correspondentes células T CD8+ Vβ5.1- CAR- (haploinsuficientes em *TET2*) (Figura 7A). Tal resultou presumivelmente de deficiência de *TET2* após mutagênese de inserção, pois a variante E1879Q não afetou a geração de 5-hmc (Figuras 11D-11E).

[1070] Para interrogar o mecanismo de mutagênese de inserção de *TET2* na função de células T CAR, foi realizado ATAC-seq, que monitora a acessibilidade de DNA (Buenrostro, J. D., *et al. Nat Methods* 10, 1213-1218 (2013), incorporado aqui a título de referência na sua totalidade) (Tabela 10). Apesar de, globalmente, as alterações epigenéticas entre células T CD8+ haploinsuficientes em *TET2* (CAR-) e bialelicamente deficientes (CAR+) deste paciente terem sido

modestas (Figura 7B), a análise de ontologia genética baseada em perfis de acessibilidade de cromatina revelou acessibilidade ganha para genes em vias que regulam o ciclo celular e sinalização de receptores de células T (Figura 15 e Tabela 8), e acessibilidade reduzida para genes em vias que regulam a diferenciação, ativação de células T e função efetora (Figura 7C; Figura 8; Tabela 8; Tabela 9 no Apêndice). Genes perto de leituras de ATAC-seq que foram substancialmente reduzidos ou perdidos após disfunção bialélica de *TET2*, por exemplo, mutagênese de inserção, incluíram vários reguladores da diferenciação efetora e função de células T, tais como *IFNG*, *NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA* e *PRDM1* (Figura 7C; Tabela 8).

[1071] Para determinar se estas alterações na paisagem de cromatina global de células T CAR clonalmente expandidas poderão ter afetado circuitos específicos de transcrição que são mediadores centrais de diferenciação e função de linfócitos T, identificamos motivos de fatores de transcrição (TF) ganhos ou perdidos em células T CD8+ CAR+ relativamente a células T CD8+ CAR- (Figura 12A). Os motivos de TF adquiridos em células T CAR+ incluíram sítios de ligação específicos de transformação de E26 (ETS) (GABPα, ELF1, Elk4) e de TF de dedos de zinco (ZF) (Sp1) que caracterizam células T CD8+ humanas virgens e de memória inicial 44 (Figura 12A e Tabela 11). De modo notável, foi demonstrado que TFs de ETS são requeridos para o desenvolvimento, ativação e sobrevivência de células T normais (Muthusamy, N., Barton, K. & Leiden, J. M. *Nature* 377, 639-642, doi:10.1038/377639a0 (1995)). Em contraste, motivos de TF que estavam menos acessíveis (Figura 12A e Tabela 11) em células T CAR+ (NF-κB, IRF1, NFAT:AP1 e CTCF) do Paciente 10 são enriquecidos em células T efetoras terminalmente diferenciadas e exaustas e têm papéis-chave conhecidos na formação da paisagem epigenética que programa a sua biologia. Picos que se fecharam no cenário de perda bialélica de

TET2 também incluíram um motivo que é reconhecido pelo TF de zíper de leucina básico (bZIP), BACH2 (Figura 12A e Tabela 11). Não obstante ter sido relatado que BACH2 inibe a expressão de genes relacionados com a função efetora para manter um estado não manipulado em células T CD8+ murinas (Tsukumo, S. *et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 10735-10740, doi:10.1073/pnas.1306691110 (2013), a sua disrupção por integração lentiviral também foi ligada a expansão clonal e persistência de células T infectadas com o HIV em vários estudos (Ikeda, T., Shibata, J., Yoshimura, K., Koito, A. & Matsushita, S. *The Journal of infectious diseases* 195, 716-725, doi:10.1086/510915 (2007)). Adicionalmente, BACH2 é um alvo de integrações pró-virais em linfomas de células B induzidos pelo vírus da leucemia murina e a sua perda é um mecanismo direto subjacente à atividade clonogênica e persistência de células imunes. Globalmente, as diferenças significativas na acessibilidade da cromatina e motivos de ligação de TF associados de reguladores bem definidos da diferenciação, desenvolvimento, expansão clonal e persistência de células T suportam a nossa inferência de que a deficiência de TET2 deslocou programas reguladores ativos nas células T CAR altamente potentes presentes no Paciente 10.

[1072] De acordo com estas descobertas, a análise funcional de células T CAR+ com *TET2* bialelicamente deficiente, por exemplo, com disrupção, cultivadas a partir deste paciente revelou uma capacidade decrescida para expressar IFN-γ e CD107a (marcador substituto para desgranulação) quando ativadas (Figura 7D), consistente com um estado menos diferenciado. Assim, a integração lentiviral em *TET2* juntamente com uma mutação hipomórfica no segundo alelo reprogramou a paisagem epigenética de células T CAR de um modo que foi consistente com o destino alterado de linfócitos T.

Tabela 8. Genes associados a regiões de pico de ATAC mais abertas ou fechadas em células T CD8+CAR+ (com disrupção de TET2) em comparação com CD8+CAR- do Paciente 10

Coluna A	**Coluna B**
Regiões de Cromatina Mais Abertas em CD8+CAR+	**Regiões de Cromatina Mais Fechadas em CD8+CAR+**
RPL37A, MIR5092, CBX3P2, CHFR, WASH5P, NCR2, ZNF205-AS1, B2M, KCNQ1OT1, C18orf54, PTGR2, LOC102467080, CCDC152, TUG1, CENPJ, GSS, MIR4489, TOM1L2, TMEM43, DOCK8, TMEM70, AZIN1, NFIB, MGAT5, ALG10B, ZNF107, TMEM134, EGLN3, PHF20L1, NUPL2, PPCDC, SLC2A11, CCNB1, IRAK1BP1, MCPH1, VWA8, KIAA0040, CES1P1, ITM2C, SOGA1, SHFM1, TEF, IFI27L2, XYLT2, MRPS33, METTL20, GPD1L, LRRC27, RPL36, LOC100507406, SNRNP70, CEBPZOS, PLXNA4, C1orf159, TMEM39A, ZBTB38, IRF7, CYTH2, LINC01030, C21orf91-OT1, API5, MPPE1, IDUA, LINC00426, TRIB1, SLC12A9, LOC101927406, YTHDF2, RNF6, CXCR4, ZNF251, C11orf73, DUSP1, NUDT15, LOC100507316, SLC25A6, PSME1, RCCD1, LOC101927482, PYCR2, TXN2, CARD11, CROCC, F2R, GCNT1, LINC01091, CX3CR1, SHISA5, PYROXD1, TTC22, PML, ANKRD7, TTC27, ACOXL, TTC37, PBX4, SEL1L, MYBL1, SOX6, C1orf21, SAMD9, LOC101927780, GNPNAT1, TSTD3, BBS10, KIAA1841, C21orf119,	MIR4668, LINC01461, TMEM218, KCTD18, KMT2E, NLRP3, NOTCH2, IL1RN, C11orf73, CHGB, NAT10, KLF7, SH3BP5, MIR4464, GALNT2, LINC00332, PTPRG, CSF2, LPP, LOC102659288, RMI2, INPP4B, KLHL29, FOXD2, DLEU1-AS1, MXI1, LINC00865, PTGER4, HSBP1L1, RD3, KCNS2, AQP7P1, NRP2, RGS1, ETS1, SPATA4, SLC22A16, IL13, ARHGAP26-AS1, RUNX1-IT1, LINC01395, NR3C1, MED7, LSMEM1, CD226, DLC1, CAMK2D, LOC100507144, HACE1, SGMS1, RUNX1, KLF6, LOC400997, PHTF2, LINC01257, LOC101927557, SMIM20, ZMYND11, CCDC81, CLIC5, BCL6, NHS, GLRX3, EZH2, C1orf131, INSIG1, SYNE2, ICA1, LOC100506700, MIR1260B, LONRF2, BACH2, MAP3K7, LOC389831, SNORA14B, CCR4, DUSP6, C3orf67-AS1, SYT14, SP140, TMEM131, GPR150, PCSK1, MIR4272, MACF1, GLDC, RAMP3, LOC339862, LOC101927780, ECT2L, ADIPOQ-AS1, BCKDHB, SMARCA2, EVA1A, MTMR2, MIR4697HG, GJA10, SLC4A10, BHLHE40-AS1, AQP7P3, LINC00636, MGME1, HTRA1, C6orf132, MIR5708, KCNQ3, CARS2, MAP7, PDE4D, IMPG2, GNA12, TGFBR3, LINC00673, MIR583, TAGLN3, MAP3K7CL, MIR1208, DUSP5, ICOS, SSBP3-AS1, MTRNR2L1, C21orf91-OT1, LOC286114, SSTR1, VWA8, MIR30B, SLC1A1, PLSCR2, LOC101927560, CCR8, MIR1206, VPS53, LRRC8B, EFHB, GTSF1L, SGMS2, CASC11, CHSY1, PTPN14, LINC01125, ZFAT, TMEM106B, C4orf51, MIR6132, TAF1B, PPP2R2D, CSF1, WWTR1, ZP4, PRDM1, SLC43A2, LOC102724550, ATP10A, RAB6B, CARD17, FEM1C, DOCK9-AS1, PCCA-AS1, GFRA2,

FAM73A, ERCC6, USP19, SPA17, ARHGEF3-AS1, CLDN18, FAM105A, TMEM261, KHDC1, MICU2, LINC00501, MYO16-SNTB2, PDLIM4, STARD8, LCP2, EPAS1, AS1, CH25H, FAM114A2, GGCT, PRKCDBP, PLA1A, MICAL2, MIR5197, VAV3-AS1, IGF2BP3, MIR21, RSRC1, TOX2, NUMB, LOC285762, FDX1, PRKAG2, LINC01031, FAM156A, MYB, LYST, ANKRD31, LTV1, LINC00589, PXYLP1, SLC9A7P1, VKORC1, FKTN, COPS7A, DNAJB11, GABRA4, STAMBPL1, ITPR2, HRH1, GEMIN8, UACA, TLE3, SGCB, IYD, TTC14, ZNF704, RAD54B, MYCBP2, LRAT, LRRC32, TNFSF18, MAEA, GCLC, RAD50, LOC283575, HDAC9, SV2C, PCNX, KIAA1217, ZCCHC5, FYN, DENND4C, LOC101593348, ABCA13, CLEC4D, ARHGAP21, CHMP4B, NCALD, SLC38A9, APBB1IP, STIM2, CGRRF1, HMGB3, PTENP1-AS, LOC101927543, SLC25A51, IVNS1ABP, PAK1, NAGA, GTF3C5, CA12, PIP5K1C, MIR4637, WARS2, CNIH3, PDGFRL, ST3GAL5, RETSAT, LOC101929715, MIR6876, NIPAL3, LOC101928001, PANK2, C5orf51, LOC154449, NEK10, HHLA2, PLB1, SLC25A13, KIF5C, ISM1, MTDH, SH2B1, LYSMD4, ZNF688, GAB3, CCNG2, TNFSF10, SUMF1, DOCK2, EPB41L3, PAIP2B, THYN1, ATXN1L, RAB22A, UCP3, TRG-AS1, MOXD1, LINC00581, PPA2, SATB2, ZC3H10, PRKCH, SEC61A1, LOC101929551, TNFSF8, ALK, GIMAP5, MIR101-2, PDHB, DBP, WFS1, CCDC141, CMKLR1, TRABD2A, LOC100129520, THADA, CDC20, DERL1, RFESD, OR10AD1, EIF1B-AS1, MIR146A, LINC00607, FAM178B, CACTIN, SYTL2, GPR146, GPR56, CHST7, MIR1913, SNX9, DTX2P1-UPK3BP1-PGAM5, CDKL5, IL12RB2, DCXR, PMS2P11, TMPRSS4, LOC101929241, DHRS4, BFSP1, ZNF408, TOMM20L, ZNF891, ADAP1, ANKRD11, C4orf32, DNAJC19, LINC00548, C1GALT1C1, HUS1, LLGL2, C2orf40, PRKY, MIR875, WNT7A, ERVFRD-1, FAM126B, CCDC132, GINS3, NFIA-CCR7, NT5E, TIAM2, CXCR4, LOC100128176, AS1, DTHD1, ISCA2, PDP2, CMC1, THEG, BZW1, LINC01358, LOC100506860, IKZF1, SLC27A1, FAM227B, C15orf41, ASXL1, LBH, LOC101927865, LOC286190, APAF1, MDM1, HNRNPA1L2, NUDT9, PGAP2, LOC100506457, MYO3B, THEMIS, NEDD9, RNU6-31P, ALG10, PIK3R1, RBM47, FAM53B-AS1, ZNF496, BCL2L14, PLEKHA8P1, TBC1D23, HSD17B7, NUDC, TIGIT, SCIN, LINC00892, CETN4P, ZNF292, TNP1, FGF12, ASPH, TLDC1, ZBED2, YPEL1, CBX7, ATP6V1B2, LOC101927950, TSEN15, IL20RA, CMPK2, MIR4465, WDR27, ENPP2, RIPK2, MIR1301, PTPN20B, GAB1, NCK2, ZNF648, PRSS8, KIAA0408, ARHGAP26-AS1, PDE4B, USP46, GFI1, OR1K1, ASAP1-IT2, DHRS9, GJA10, RNU6-2, POLR2D, FAM69A, PTEN, BMP1, TNS3, PTPRD, CDCA7L, CTU1, RNF141, EXOC2, MOCS2, LMNA, HIVEP2, DUSP10, OTOGL, LMO1, AREG, EPSTI1, BHLHE22, ZC3H12C, MED15, STEAP4, GHSR, UPP1, ANXA1, LINCR-RASL11B, OAF, TRAPPC11, CREG1, 0001, SYK, COPS8, SLC38A6, MKKS, MIR6124, IPCEF1, MYPOP, TTC1, ZNF808, CHST2, NRBP1, LOC728730, FLJ21408, 42434, PON2, FAM63B, CBLB, SYNE1-AS1, SEMA6A, DOT1L, FLJ27354, RHBDD1, LINC00888, DHRS13, NDUFB5, GNAI3, FLJ33360, ZMIZ1-AS1, PLAGL2, MIR92A1, ITGB1, LINC00924, RPLP1, SLITRK1, CASP3, ANXA5, RABGAP1L, RLBP1, TNFAIP8, ASAP1-IT1,

GCC1, ASPHD2, GUCY1B3, ACTN4, DPYSL2, ARHGEF3, RBMS3-AS3, RYBP, TBC1D32, PC, GNA12, PDE4D, LOC100130298, ADRB2, RBPJ, MIR4526, NFATC1, AASDH, SATB1-AS1, SBSPON, IL5RA, CCDC91, LINC-PINT, ANKRD20A3, ZADH2, ZBTB11-AS1, PRICKLE3, LOC101928436, BACH1-IT2, CHMP2B, MIR4729, NDUFAF5, ZMPSTE24, RPRD1A, PTPN3, PRTFDC1, LAPTM4B, CRCP, LINC00423, ZNF669, CLIP4, PCNXL3, RCN2, ANKRD33B, TP63, LOC100507420, GNA14-AS1, CXorf57, PRDM13, LOC441666, TNFSF11, LOC101927243, HIPK2, C1orf106, GPALPP1, MRPS14, AAMP, JMJD4, ARHGAP31-AS1, PSMD14, SPTY2D1, CDH17, GOT1, N6AMT2, ZC3H7A, NEMF, LOC441204, SHQ1, CCND2, LINC00824, ITGA2, MIR6871, SAP18, ABCA1, U2AF1, APOD, ZC3H12C, CD58, C2orf57, SVILP1, BCL9L, NSDHL, RNF223, NR5A2, RTTN, MIR1976, LOC152578, KHDC1, LINC00969, PLS3, PMM1, HIVEP1, DTX2, PLEC, SNORA62, AGFG2, LOC101928105, SERTAD2, LOC101929517, C20orf196, EDN1, PMEPA1, DSE, C10orf131, LINC00540, CCDC28A, ZNF648, PEX26, EGR4, LINC00501, ITK, LRRFIP2, LINC01094, MIR548G, RIN3, TMEM167A, HLA-DQA1, NEK2, ZBED2, CCDC141, LOC102724246, AOAH, BAI3, SRP9, YIF1B, CHMP7, ZNF638, RPSAP58, FBXW11, KCNMA1, HSPA4L, DKK2, ENPP4, BCL10, SCAND2P, RGS14, ARAP3, MIR4435-1HG, MIR573, ARID5B, CD83, HLCS, BEND4, SEC61A2, NLK, FNDC9, OR52K1, CAMK4, C1orf140, MREG, ARL6IP1, ARHGEF19, LIX1L, LHFPL2, PAPOLG, RBM26, LOC103352541, MAF, CCDC174, CSTF2, ZNF483, CCT6P3, TMC1, NR1I2, POLR2J3, EOMES, TAB2, GATAD2A, AMN1, MRPL47, PIGV, GBF1, RTFDC1, COL6A3, LOC285484, TRIM62, EGOT, B3GNT5, ZNF862, CNNM4, TSGA10, CNKSR3, NIFK, GPR55, PTP4A3, MIR4743, EBP, RAVER1, EBPL, KIAA0825, SETBP1, WWOX, IGF1, ACSM6, IDH2, B4GALT6, LINC00491, TMEM185B, MCFD2, MB21D2, LOC439933, BHLHE40, AKAP11, EED, CDC14A, TRIM68, SNRPG, MEF2C-STX11, MIR4715, MIA2, CASC19, LRRN1, AS1, TOX4, CPNE3, NDUFA12, MIR29B1, IL2RA, SORL1, LOC100130992, NEK11, GEMIN5, GALNT11, GNPDA1, PXK, RAMP1, GNAQ, MIS18BP1, ARHGAP19, TDG, DIXDC1, APMAP, MIR623, EGR3, VDR, HMG20B, LOC101928834, MCM2, SETBP1, LINC01232, ST3GAL1, IRF2, GATB, UTRN, EHD3, PTK2B, TMEM218, PTK6, AP1G2, APBB1, HADH, LOC101927653, SLC39A10, ROR2, LRRN3, GAREM, STARD13, ZNF519, TVP23B, TGFBR2, FHIT, KIF22, LOC100506585, DDX56, RAB11FIP1, LOC148696, LOC101060498, INPP5D, UBASH3B, LDLRAD4-DUSP10, CRADD, ITGA2, APOA1, AS1, MIR4493, PIK3R1, MAPKAP1, NCOA1, ZNF43, CDCA7L, LOC100147773, MIR6881, LOC441666, MIR4435-2, TSPAN5, GM2A, PARK7, DDIT4, MRPS31, SPATA13, METTL6, WI2-2373I1,2, ITPKB-IT1, NBPF25P, PPIB, CSNK1G1, LUCAT1, TINAG, CCR5, STAB2, C6orf99, TRIB1, P2RY13, MIR210HG, THAP1, ZFP1, PRDM11, DIXDC1, INPP4A, FAM133B, LMNB1, ST8SIA4, RGPD5, PRSS3, CCNC, TXK, PNPO, OTOL1, SRGAP2D, LOC253573, LTA4H, GPR68, TRAPPC12, PLCG2, NAPA, EREG, HPSE, SFTPD, C3orf17, DPPA2P3, IER3,

PLAGL1, MINA, TNFAIP1, COPG2, CDK5RAP2, CD247, CD44, PIK3AP1, ZADH2, DZANK1, CHST2, TMEM126A, CCDC83, HULC, KLF13, SYTL3, MMP20, NBEAL1, KHSRP, C10orf99, ANO10, LOC100507195, TP53BP2, LOC101927416, SATB1, MIR4458HG, FAM175B, TPRKB, NRCAM, LOC392452, SMIM3, IL37, CCDC147-AS1, USMG5, PTP4A1, ABHD2, ENTPD3-AS1, NSUN7, WDR1, SMAP2, LOC102724323, HHAT, RAET1K, CAMTA1, CEP131, MYADM, CTHRC1, SMCR5, NABP1, YWHAQ, SPIDR, EIF3D, TMEM161B, NCOA4, ADAM6, MTHFD1L, MALSU1, TRIB2, SFXN4, MIR4744, SNX19, FAM161A, VWA5A, MIR1200, CSGALNACT2, RSPO3, PKI55, GPR87, ABLIM2, DDX10, ZNF84, MOSPD3, IER5, STK39, CD5, NUAK1, CD200R1, RNU5D-1, ABCB8, GTPBP3, LOC729218, ELP4, MIR1343, RANBP9, MIR6743, RNLS, RGS10, SP4, MCM10, SACS, AP2M1, ERCC4, LDHD, SYCE1L, GPR171, HECA, WT1, HDAC8, DGCR6L, PSMA6, TIMM10, ZNF692, ICAM2, AKAP13, SSPN, SENP6, COPG1, CRTAM, SLC7A11, FOXK1, COG2, LOC100128993, IL12RB2, ETV1, GBE1, IQSEC2, COMMD2, CLU, OSBPL3, CUTA, STON2, DSTN, STK4, UBXN10, TRIM36, RABL2A, ASMT, FAM105A, CCL3, ZNF430, TACR3, MIR6729, FLJ20021, FAM196B, ANK1, MIR4269, SMARCAL1, ST3GAL1, ZBTB17, SVIL, NBPF20, LINC01132, SNORA72, DDX50, TET3, L3MBTL1, DLGAP5, ISM1-AS1, FAM129A, LINC01359, ELMO1, OGG1, THEMIS, ACO2, GNG2, BCOR, LRRFIP1, RAB31, ANTXR2, XRCC5, ASIC3, GTPBP8, NDUFS8, CPOX, LPAR3, C11orf58, SMKR1, NFKB1, RIMS2, SKI, MIR4786, GFPT1, PTPRM, LOC100132529, SLC37A3, SERPINE3, RAD23B, LOC101929153, BTBD6, FAM45B, PPP1R21, CTD-2201I18,1, LINC00900, STARD13, MIR604, LINC01031, CHMP4A, SGMS1, IRS2, LOC102724467, FLJ36777, ANKRD44-IT1, ZSWIM3, RANBP10, FZD6, PRTFDC1, ACOXL, GOLGB1, SP140L, BTBD11, PTPRE, MBD1, SPAG16, TLE3, MAP2K6, ANKRD46, CSGALNACT1, PRORY, ABCB4, RERGL, DUSP11, SMARCAD1, C12orf42, CYP11A1, EIF1, NAV2-AS5, PIK3CA, AMFR, RNFT2, COMMD6, MIR4473, G2E3, KIAA0825, R3HCC1, IRF4, LOC101928731, CCDC7, YY1, SDHAP3, YIPF5, LOC728084, PPP1R3G, MSH4, ADTRP, ATP1A1, FAM175A, ATP5G1, KLHL20, TBC1D23, DDX11, ZNF267, DRAM1, DUSP22, DOPEY1, YIF1A, TTC23L, UBXN2B, C1orf229, MIR6516, CIAO1, NCOA7, RGS2, TBC1D22B, MTMR9, RPL39L, OR13A1, EDN2, GPR183, LINC01510, CYFIP2, KIAA1191, TRIM21, CD34, LOC100129316, HBS1L, ITGAL, JARID2, ZNF595, PHOSPHO2, LOC101929057, INTS3, LOC646736, TNFRSF18, MIR3194, MIR2355, MCCC2, MORN1, ZFAND2B, LINC01140, MIR4435-1, EBF1, TRUB1, MYO1B, UBASH3B, RUNX3, GTF2E1, LOC100130476, ID3, RUNX3, ZNF365, SLC25A38, HNRNPC, BLM, LOH12CR1, LINC01091, APBB1IP, XCR1, TSC22D1, FAM46C, EPB41L4A-AS1, CKAP5, MIR548Z, ABHD2, CR2, FAM86B3P, LRRK2, TMPPE, CD55, EIF1AY, MAF, USP11, MIR6731, TAOK3, C1orf105, SAMD3, IFNG, POMT2, SPHK2, KIAA1462, RAPGEF1, MIR4782, SLA, CCNY, MT2A, NFKBIA, SPSB1, PDE4B, TCEANC, ZDHHC13, SUGP1, CXCR3, SCARB1, UCP2, C9orf72, PSMD5-AS1,

DDHD1, ECT2, SPAG1, AKAP13, GSTO1, LOC101927482, TRANK1, C10orf71, ACN9, APEX2, KIAA1919, MIR3714, CMC1, EPHA2, MIR1244-1, PRSS55, COL6A4P1, SLC25A3P1, TP53RK, FAM53B-AS1, MIR548I3, ADORA3, C10orf128, PEX2, SEC31A, TMEM5, ACYP2, LINC01395, SPATA24, FUT8, PKN2-AS1, GK3P, HSD17B7P2, PGK1, PDHA1, CCNT1, LOC100288911, REREP3, CD86, MYL4, ANXA6, PLRG1, SNRNP48, UBE2C, PITPNC1, MBP, RAB32, LINC00152, STK31, MINA, DUSP4, NUMB, FOXO1, CALU, PAF1, TMEM2, LRRC8C, RFT1, NLRC5, MIR5188, C14orf64, FKSG29, TSHR, PROSER3, GCSH, MIR548AN, IQGAP1, PALM2-AKAP2, RFESD, CASC21, BCKDHB, COPE, KLHL26, ITPR1, BTBD3, MIR1205, MDFIC, BTD, FAM72B, POT1-AS1, CCDC64, PDK3, ELK1, ZNF254, MAEL, KATNBL1P6, BIRC3, PRDM14, ADIPOR1, CHMP4B, ZNF750, AEBP2, AGPAT9, MEGF10, TNC, KLHL3, PDK4, LOC728730, POU4F1, KIZ, GRHPR, ADA, PLXNC1, ENAM, HOMER2, PLEKHA7, ELAC1, COX8A, CCZ1B, CEP164, FRMD4B, PKIA, NFATC2, PVT1, NDFIP1, GNPTAB, MPHOSPH6, LINC00595, BHLHE40-AS1, MAP6, PGAP1, MBNL1, NT5M, MICU3, ASF1A, ADRB2, PLXNA1, RSL24D1, SPTSSA, DIABLO, BRD7, GNAI1, MTRNR2L6, MIR4724, MAT1A, FAM122A, RBM20, NDUFV2, BBS10, LYPLAL1, PIM1, SNORA75, DGCR6, RBM27, PSMD8, LINC01252, ITPKB, LOC100505887, ANKRD20A4, FLRT3, UTRN, ITGB1, SLC45A4, MIR5703, ZBTB10, ARL14EPL, FGGY, MIR7854, SNORA26, DCTN4, PROSC, TMPRSS11E, TOB2P1, SCML1, CHRNA1, CDKN2D, EOMES, MIR146A, RNASET2, RIN3, GLS, LINC00598, PILRA, LINC00298, NUPL1, LYRM7, NRL, ZC3H12D, BATF3, AFF2, KIF13B, TG, LINC01160, ANKRD20A11P, RSU1, ZNF286A, LDHA, CLEC16A, RGS9, SPRED2, GALNT18, PACRGL, TMEM67, TWISTNB, MMP19, FAM13A, TRIM25, TNFRSF10D, PGPEP1L, EPDR1, AURKAIP1, ANKDD1B, IL15RA, SEMA4D, OR4N3P, SH3RF1, ZNF736, TBCC, PARP11, EIF2AK1, ETV6, LSM6, NAB1, GATA3, LOC100506990, SDCBP2, NPRL2, LOC102723895, CCR3, MIR4681, IDS, ZBTB7A, NOP14-AS1, TBC1D4, HMG20B, EPHB1, CD69, CELF2, ARL6IP5, SRGAP3, NTPCR, HNRNPA0, TFDP2, AGO2, DAPK2, NAT1, LMO7, ACER2, ALG1L2, IL21-AS1, GGA3, ABTB2, TIMMDC1, STX17, PDXP, SEC22A, BCAR3, LOC728613, AKAP2, RAPGEF1, ATXN1, PARS2, MAGT1, LINC00536, PREP, P2RX4, MIR4461, SMAD3, NFIA-AS1, HNRNPD, SS18L2, ERMP1, LOC100505478, FOXO1, SMAD1, MAFIP, CD28, DNAJC19, SNORD50A, EIF3F, GSR, CALCOCO1, MIR648, FAM126A, S1PR1, MRPL16, BUB1, LOC101927592, LOC100288778, HS1BP3-IT1, ANKRD18DP, PROSER1, CALCOCO1, IFT27, GOLGA8B, TTLL1, GTF2B, NEB, DYNC2H1, MALSU1, ATP6V0A4, SLC25A26, OR52W1, GPI, RASGRF2, ITM2B, EPS8, ALS2, SLC46A3, C16orf91, BCL2, LOC283788, TATDN2, SPEF2, HIVEP3, SNAI3-AS1, RABGGTA, SLC2A8, LOC151475, CASC23, KANK3, MRPS30, ZDHHC19, PITRM1, SFMBT2, LOC100507406, MBNL2, TGFB2-AS1, MCF2L2, ALDH4A1, STK39, LOC101928530, MRPL33, PRKAR1A, SLC26A4, RNF165, DAZAP1,

NGDN, SSR3, TMEM41A, ABCF2, ANKRD6, CCDC64, TMEM200C, ALLC, ZFP36L1, PCTP, AGGF1, NOC3L, HAVCR1, GOLGA8A, LYZ, LOC101928370, ITPRIPL2, PEX7, SPRY2, TBL2, C7orf50, CACNA1E, CD59, PTPRC, DLGAP1-AS2, GDNF, MYO9B, GRAMD3, CARM1, FGD2, HNF1A-AS1, SLC8A3, HSP90AB1, CUBN, KIAA0141, C5orf64, ZNF32, GHITM, CTNNA3, GPHN, MIR1207, ILDR1, SLC35G2, C1orf52, TAOK3, RNGTT, LINC01010, PGS1, LINC01250, TLDC1, MIR6723, LOC388942, CLCN5, DHTKD1, SERPINB6, PPARG, ZDHHC19, COX17, ODF1, SPINK2, LOC100132891, SIDT2, GYG1, RRAS2, FAM210B, CDV3, GPATCH2, NEK6, ARHGAP22, RFWD3, ELL, MOSPD2, LOC101928988, LOC101928730, RFC3, RASGRP1, LOC100996286, TMEM115, ARMC1, RASAL2-AS1, HLX, PLAC1, NES, LDLRAD4, LINC00598, POC5, NFATC2IP, PER1, B4GALT1-AS1, ST3GAL6, TBL1X, AGK, LOC100288911, ZNF138, LOC151484, LOC102724957, MCOLN2, TTPAL, MIR593, TTC30B, LINC00221, ROBO3, CRB2, LOC100506178, CERS6, PDP2, MIR568, RNU6-16P, NFKBIB, GGACT, ZNF133, LOC100133050, NAPG, TSC22D2, HSD17B8, LINC01222, SRPR, PSMD3, WARS2, SLAMF1, PCSK6, RLIM, MIR548AV, MIR6874, TDRKH, CST7, WASH7P, ORMDL2, DNAJB5-AS1, CHEK2P2, ZNF592, LOC101928453, WNT10A, SLA, LAMTOR4, RPN1, MIR3143, PCDH1, EHD1, UNC45A, PLEKHA6, PTK2B, AHR, DHRS4, N6AMT1, USP25, ARHGDIB, USP3, LMOD3, SFXN1, PRR5L, TRPS1, OSBPL8, FBXO33, TSPAN13, CDH13, LOC100507412, FSCN1, HINT1, SPC25, AP2A1, TAGAP, LINC00114, SNX13, MIR4316, S100A2, EVI5L, CDC25C, MIR9-2, LMBR1L, LOC101926963, C9orf24, MIR7848, MEF2D, GOPC, PDCD4-AS1, ABLIM1, ZNF680, PPP1R16B, ITGB7, KRBA1, AP5M1, ARGLU1, LOC439933, ARL13B, CERS5, TMEM154, RASGRP3, SMG5, EFHD2, SAMD5, GLCCI1, MAP9, APOO, CSF1R, SH3RF2, LINC01366, CAMK1, ZNF815P, C5orf63, MIR8086, TFAP2A-AS1, ZNF124, P2RY14, CLLU1OS, ZIC3, LHX9, KCNJ1, BPESC1, LOC100130451, LINC00461, CD84, IL1R2, LYPD6B, MTRNR2L2, DCAF12L1, MIR7160, ADPRHL1, ACOX3 ITGAD, EBLN2, MRPL36, FAS-AS1, LOC101928386, PVR, LRRC7, C10orf40, KLF10, FTO, GPR132, GMPR, SOWAHD, STIP1, ZFP36L2, DDAH1, NMBR, SLC4A7, GAP43, MIR1245B, TRPV2, G0S2, APBB2, UQCRBP1, ZC3HAV1, CTSB, PHLDA3, CD2, DUSP2, FTL, SMCO1, LOC100506801, STAT4, NSMCE2, IL10RA, CCDC12, GFOD1, CLCN4, GCNT4, PTPN13, LPGAT1, TMSB10, HPCAL1, LOC101927391, BCL2, PRDX4, TTN-AS1, LOC101927406, POLI, CTNNB1, NPPC, CDK5R1, MCTP2, CCDC102A, STK24, SH3TC2, CFC1, SLED1, GPR174, ZNF827, LAG3, PVRL3-AS1, MARCKS, KCNQ5-IT1,

TRERF1, FZD8, BCL2A1, ANK3, JAG1, ASAH2, OR1F1, BCAT1, LRRK1, POLR2J2, PTDSS1, CD3E, MIR3945, RHOH, GNG2, IQGAP2, BTBD19, C1GALT1C1, RGS20, CCDC6, EFTUD1, RBMS1, MIR155, VCAN, GTF2H5, LOC101927651, STX2, IGFBP5, NVL, MSN, RASGRF2-AS1, LOC401585, MGST2, TBX21, MCF2L-AS1, CLDN12, LIMA1, SREBF2, EMC2, AFAP1L2, NOD2, DNM3OS, CLN8, ZNF311, PIK3CG, CP, CCDC85A, ZCRB1, PCDHGC5, FURIN, WNT16, DOCK10, MIR129-1, ZCCHC18, OR2V2, LOC102723703, MEX3C, DNAJC5, PIGB, FAM71B, WIPF1, FNBP1, LINC00603, SH2D1A, GGTLC2, POLR2J, AKNA, AMICA1, PPP1R1C, ST6GAL1, RUNX2, DGKA, CUL4A, BCL11B, MIR155HG, MIR3188, GABRR3, SMAD7, GRAMD1B, CRTAM, AGBL3, CASR, RUNDC3B, DTNA, METTL21EP, LOC727896, TMOD1, SLC4A4, LINC00708, GPR64, ASB4, SETD7, RIF1, SFMBT1, PAX8-AS1, VPS8, FCER1G, TOP1, CPEB2-AS1, TPTE2P6, PYROXD1, IL1RAP, ARHGEF12, CTLA4, STK17B, PPP2R5C, NLRP6, MTRNR2L8, SGK1, MIR4471, BEX5, GRAP2, FIGNL1, MTNR1B, CAPN13, COLEC12

A **Tabela 9** é mostrada no Apêndice, que faz parte da revelação, e é incorporada aqui a título de referência na sua totalidade.

Tabela 10. Resumo da estatística para ATAC-seq. de células T CD8+ CAR+ e CD8+ CAR- do Paciente 10

Nome da Amostra	Índice Nextera	Leituras Totais (extremidades emparelhadas 2 x 75 pb)	Alinhamento Concordante Único #	% Alinhadas de Modo Concordante
células T CD8+ CAR+ (Repetição 1)	CAGAGAGG	98,139,264	89,411,351	91,1
células T CD8+ CAR+ (Repetição 2)	CTCTCTAC	78,513,260	75,702,498	96,4
células T CD8+ CAR- (Repetição 1)	GGACTCCT	220,099,187	204,644,381	93,0
células T CD8+ CAR- (Repetição 2)	TAGGCATG	98,975,732	91,325,785	92,3

Tabela 11. Lista de motivos de ligação de fator de transcrição unicamente enriquecidos presentes em picos ganhos em células T CD8+ CAR+ em comparação com CD8+ CAR- do Paciente 10

Nome do Motivo	Consenso	Valor P	Log valor P	valor (Benjamini)	q	Nº de Sequências-Alvo com Motivo (de 817)	% de Sequências-Alvo com Motivo	Nº de Sequências de Referência com Motivo (de 46637)	% de Sequências de Referência com Motivo
NFY(CCAAT)/Promotor/Homer	RGCCAATSRG	1,00E-18	-4,37E+01	0		84	10,28%	1529,7	3,28%
GABPA(ETS)/Jurkat-GABPa-ChIP-Seq(GSE17954)/Homer	RACCGGAAGT	1,00E-15	-3,49E+01	0		106	12,97%	2573,3	5,52%
ELF1(ETS)/Jurkat-ELF1-ChIP-Seq(SRA014231)/Homer	AVCCGGAAGT	1,00E-14	-3,39E+01	0		91	11,14%	2059,7	4,42%
Elk1(ETS)/Hela-Elk1-ChIP-Seq(GSE31477)/Homer	HACTTCCGGY	1,00E-12	-2,77E+01	0		90	11,02%	2265,4	4,86%
Elk4(ETS)/Hela-Elk4-ChIP-Seq(GSE31477)/Homer	NRYTTCCGGY	1,00E-11	-2,55E+01	0		87	10,65%	2243,5	4,81%
Sp1(Zf)/Promotor/Homer	GGCCCCGCCCCC	1,00E-05	-1,18E+01	0,0001		71	8,69%	2341,6	5,02%
ELF5(ETS)/T47D-ELF5-ChIP-Seq(GSE30407)/Homer	ACVAGGAAGT	1,00E-04	-1,14E+01	0,0002		52	6,36%	1557,7	3,34%

ETS:RUNX(ETS,Runt)/Jurkat-RUNX1-ChIP-Seq(GSE17954)/Homer	RCAGGATGTGGT	1,00E-04	-1,12E+01	0,0002	14	1,71%	195,8	0,42%
MYB(HTH)/ERMYB-Myb-ChIPSeq(GSE22095)/Homer	GGCVGTTR	1,00E-04	-9,52E+00	0,0008	99	12,12%	3825	8,20%
KLF5(Zf)/LoVo-KLF5-ChIP-Seq(GSE49402)/Homer	DGGGYGKGGC	1,00E-04	-9,27E+00	0,001	145	17,75%	6109	13,10%
GFY-Staf(?,Zf)/Promotor/Homer	RACTACAATTCCCAGAAKGC	1,00E-03	-8,82E+00	0,0015	13	1,59%	215,9	0,46%
BMYB(HTH)/Hela-BMYB-ChIP-Seq(GSE27030)/Homer	NHAACBGYYV	1,00E-03	-8,36E+00	0,0022	73	8,94%	2714,3	5,82%
AMYB(HTH)/Testes-AMYB-ChIP-Seq(GSE44588)/Homer	TGGCAGTTGG	1,00E-02	-6,74E+00	0,0092	74	9,06%	2928,3	6,28%
GFY(?)/Promotor/Homer	ACTACAATTCCC	1,00E-02	-6,12E+00	0,0161	10	1,22%	189,3	0,41%

[1073] Seguidamente se analisou o estado de diferenciação de células CTL019 *in vivo* do Paciente 10 e foi comparado com células T CAR de seis outros pacientes que responderam a esta terapia, incluindo dois sujeitos com CLL (Pacientes 1 e 2) que tiveram remissões duráveis de longo prazo (>6 anos) e não exibiram integrações de *TET2*. No pico da enxertia *in vivo* e expressão de marcadores de ativação (Figura 9), mais de 65% das células T CAR exibiram um fenótipo de memória central, que diferiu destes outros respondedores completos cujos repertórios foram dominados por células CTL019 CD8+ de memória efetoras e efetoras no máximo da resposta (Figura 7E). O silenciamento de *TET2* recapitulou o efeito da sua perda no Paciente 10, por exemplo, disrupção de inserção, no estado de diferenciação de células T humanas totais e CD8 bem como CD4 CAR+ de sujeitos saudáveis (Figuras 7F-G; Figuras 10A-10C), implicando TET2 como um regulador epigenético do destino de linfócitos T.

[1074] A regulação mediada por TET2 da diferenciação de células T CD8+ pode não ocorrer ao nível da transcrição, pois não observamos expressão de mRNA de TET2 diferencial entre subconjuntos não manipulados e de memória. Estas descobertas podem ser explicadas pela observação de que, apesar de a expressão do gene TET2 ser rápida e transientemente aumentada por desencadeamento de receptores de células T de um modo dependente de Ca2+, a calendarização da indução de 5-hmC ocorre mais depressa do que alterações na expressão de mRNA. Os sinais de receptores de antígenos que regulam a transcrição de TET2 bem como a atividade enzimática de TET durante a ativação/diferenciação de células T aparentam estar fortemente controlados e podem atuar através de múltiplos mecanismos independentes.

[1075] Para pesquisar a importância funcional desta alteração do estado de diferenciação de células T resultante de deficiência de TET2

realizou-se um ensaio de re-estimulação em série *in vitro* para prever a potência clínica de células T CAR. A estimulação repetida com células tumorais expressando CD19 permitiu que células T CAR deficientes em TET2 continuassem a se expandir de um modo dependente de antígenos, ao passo que a re-estimulação de células T CAR com TET2 inalterado resultou em paragem do crescimento da cultura (Figura 12C) sem afetar a sua viabilidade (Figura 17). Estes resultados demonstram que o 2-hidroxiglutarato, um inibidor de TET2, mantém a sobrevivência de células T CD8+ murinas *ex vivo*, que por sua vez pode mediar a atividade antitumoral *in vivo* destes linfócitos que, de outro modo, estaria diminuída pela diferenciação efetora. Apesar de o nocaute de TET2 em células T CD8+ murinas exibir um desvio similar do fenótipo de memória central, a sua atividade intensificada, no contexto de respostas imunoinflamatórias e antivirais, não é atribuída a uma vantagem proliferativa (Carty, S. A. *et al. J Immunol,* doi:10.4049/jimmunol.1700559 (2017)). Tal sublinha o efeito diferencial da deficiência de TET2 na função de células T CD8+ humanas relativamente a camundongo.

[1076] Para abordar adicionalmente o efeito da inibição de TET2 na função de células T CAR examinou-se a produção de citocinas após estimulação aguda (Figura 18A) e crônica (Figura 18B) com antígenos *in vitro*. Consistente com a nossa análise de células T CD8+ CAR+ no Paciente 10, a produção de IFNγ após ativação de CD3/CD28 foi decrescida em células T CD8+ bem como CD4+ com níveis reduzidos de TET2 (Figura 18A). Foi observado um decréscimo similar para a geração de TNFα (Figura 18B). Em contraste, a produção aguda de TNFα e IL-2 por células T CD4+ foi aumentada por indução específica de CAR (Figura 18A). Não obstante a exposição repetida de células CTL019 em volume a alvos tumorais expressando CD19 também ter conduzido a um decréscimo da elaboração de IFNγ (Figura 18B), a

inibição de TET2 resultou na produção sustentada de várias outras citocinas estimuladoras, inflamatórias e reguladoras após múltiplas rondas de estimulação (Figura 18B). Estas observações sugerem que TET2 pode controlar a produção de citocinas específicas de subconjuntos de células T humanas de um modo dependente de receptores de antígenos e/ou sinais coestimuladores.

[1077] Para além da regulação de *loci* genéticos de citocinas, a metilação de DNA é um processo epigenético dinâmico, importante que influencia a formação e manutenção do estado de células T CD8+ efetoras. Com base na nossa avaliação funcional de células T CAR+ deficientes em TET2 expandidas do Paciente 10 e descobertas de outros estudos, previmos que o silenciamento de TET2 iria decrescer a expressão de moléculas efetoras em linfócitos CTL019. A estimulação específica de CAR, mas não de CD3/CD28 aumentou a expressão de CD107a (Figura 19A). Tal pode ser atribuído, pelo menos em parte, a capacidade citolítica intensificada mediada por coestimulação de 4-1BB relativamente a CD28 devido a sobrerregulação de NKG2D. Uma vez que a diferenciação de células T CD8+ é acompanhada de metilação decrescida e expressão genética sobrerregulada em *loci* de genes efetores, incluindo GZMB (codificando granzima B) e IFNG, exploramos subsequentemente se a inibição de TET2 influencia componentes críticos da maquinaria citotóxica. Em contraste com IFNγ, a redução de TET2 em células T CD8+ CAR+ aumentou os níveis de expressão de granzima B e perforina (Figura 19B). Estas alterações foram associadas à atividade citotóxica reforçada de células T CAR com silenciamento de TET2 por cocultura com alvos leucêmicos expressando CD19 (Figura 19C).

[1078] As descobertas acima sugerem que a deficiência de TET2 pode produzir células T CAR altamente potentes com propriedades de células de memória de vida curta que podem se expandir rapidamente

e induzir respostas efetoras robustas, bem como células de memória de longa duração que persistem de modo durável. Assim, marcadores adicionais da função efetora/de memória foram examinados em células T CD8+ CAR+ e CAR- usando amostras pós-infusão retrospectivas do Paciente 10 e pacientes com CLL respondedores de longo prazo. No máximo da resposta, células T CAR+ reativas para tumor do Paciente 10 possuíam níveis mais elevados de granzima B (Figura 20A) e Eomesodermina (EOMES; fator de transcrição envolvido na formação e manutenção da reunião de células T de memória CD8+; Figura 20B, painel da esquerda) em comparação com células T CAR- correspondentes, o que foi distinto de outros respondedores que exibiram remissões duráveis. Todas as células T CD8+ CAR+ clinicamente ativas em pacientes respondedores, incluindo as do Paciente 10, expressaram CD27, um receptor coestimulador envolvido na geração de memória de células T (Figura 20B, painel do meio). A frequência de células CTL019 expressando KLRG1, um marcador da senescência de linfócitos T que se sabe ser regulado por metilação de DNA, foi significativamente menor em células T CAR deficientes em TET2 do Paciente 10 em comparação com a de outros sujeitos (Figura 20B, painel da direita). De acordo com as nossas observações anteriores, uma frequência elevada de células T CAR+ positivas para Ki-67 foi observada no pico da expansão *in vivo* no Paciente 10 (Figura 20A, painel da direita), sugerindo adicionalmente que TET2 é requerido para a proliferação e expansão de células T CD8+ específicas para CAR. Estas observações suportam coletivamente a ideia de que a perda de TET2 promove o desenvolvimento de células T CAR de memória humanas capazes de induzir respostas efetoras antitumorais fortes.

[1079] Em resumo, a expansão clonal profunda de uma única célula T transduzida com CAR com deficiência bialélica de TET2, por exemplo, em que a integração lentiviral procedeu à disrupção de *TET2,*

transformou uma resposta não curativa em uma remissão molecular profunda em um paciente com CLL com setenta e oito anos de idade. A caracterização desta população de linfócitos T revelou que mesmo alterações moderadas no ambiente epigenético podem alterar o destino da diferenciação, bem como a função efetora, e se traduzir em um efeito terapêutico considerável. Apesar de os estudos iniciais se terem baseado em uma análise extensa de um sujeito, a recapitulação do efeito da deficiência de *TET2* no destino de células T CAR, diferenciação de linfócitos T e atividade antitumoral em sistemas de cultura relevantes envolvendo células T humanas primárias de 12 indivíduos saudáveis suporta a descoberta de uma via epigenética modificável que pode modelar a resposta imune. Assim, visar o epigenoma usando moléculas pequenas, estratégias de integração transgênica dirigida a sítios altamente eficientes ou outras abordagens de engenharia genética podem melhorar a eficácia e persistência de células T CAR em terapia para câncer. Adicionalmente, esta pesquisa proporciona o ímpeto para estender o mapeamento da paisagem epigenética a células T CAR e um enquadramento mecanístico para determinar como TET2 pode regular parcialmente (ou completamente) o seu potencial de diferenciação/potência efetora através de vias catalíticas e/ou não catalíticas. Por fim, os resultados indicam que a progênie de uma única célula T CAR é suficiente para mediar efeitos antitumorais potentes em leucemia avançada.

Métodos

Amostras de pacientes

[1080] Os pacientes foram inscritos em um protocolo clínico aprovado pelo Institutional Review Board (IRB): "Genetically Engineered Lymphocyte Therapy in Treating Patients With B-Cell Leukemia or Lymphoma That is Resistant or Refractory to Chemotherapy" (ClinicalTrials.gov número: NCT01029366) que foi planejado para avaliar

a segurança e eficácia da transferência adotiva de células T autólogas expressando receptores de antígenos quiméricos CD19 que incorporam domínios coestimuladores de TCR Zeta e 4-1BB (CTL019). Todos os participantes deram o seu consentimento informado escrito de acordo com a Declaração de Helsínquia e a *International Conference on Harmonization Guidelines for Good Clinical Practice*. O presente estudo é uma investigação secundária usando amostras de pacientes recolhidas de ensaios clínicos existentes. Em consequência, os tamanhos das amostras neste Exemplo foram determinados pelos planejamentos dos ensaios clínicos originais e disponibilidade das amostras; não foram aplicados nenhuns critérios de inclusão/exclusão adicionais.

Linhagens de Células

[1081] A linhagem de células NALM-6 foi originalmente obtida da American Type Culture Collection (ATCC). Células OSU-CLL foram obtidas da Universidade do Estado do Ohio. As células foram expandidas em meio RPMI contendo soro fetal de bovino (FBS) 10%, penicilina e estreptomicina a baixa passagem e testadas quanto a micoplasma usando o kit de detecção MycoAlert seguindo as instruções do fabricante (Lonza). A autenticação das linhagens de células foi efetuada pelo Genetics Core da Universidade do Arizona (EUA) com base em critérios estabelecidos pelo International Cell Line Authentication Committee. O estabelecimento do perfil de repetições curtas em tandem (STR) revelou que estas linhagens de células estavam bem acima do limiar de correspondência de 80%. As células NALM-6 e OSU-CLL foram manipuladas para expressarem constitutivamente luciferase do besouro elaterídeo verde (CBG)/GFP intensificada (eGFP) e submetidas à triagem em um FACSAria (BD) para se obter uma população >99% pura. Testes de micoplasma e autenticação são rotineiramente realizados antes e após engenharia molecular.

Preparação de células T CAR e estudos correlativos

[1082] Células T do sangue periférico para a preparação de CTL019 foram obtidas por leucaférese como previamente descrito (Fraietta, J. A. *et al. Blood* 127, 1117-1127 (2016); Kalos, M. *et al. Science translational medicine* 3, 95ra73, (2011); Porter, D. L. *et al. The New England journal of medicine* 365, 725-733, (2011), Porter, D. L. *et al. Science translational medicine* 7, 303ra139, (2015)). O processamento, avaliação citométrica de fluxo, quantificação de citocinas no soro e análises de PCR quantitativa de amostras pré- e pós-infusão de CTL019 foram conduzidos como previamente relatado (Maude, S. L. *et al. The New England journal of medicine* 371, 1507-1517, (2014)). O sequenciamento de geração seguinte de rearranjos de cadeias pesadas de imunoglobulina (IGH) foi realizado em DNA isolado de amostras do sangue e medula. Em resumo, iniciadores específicos para os segmentos genéticos variável e de junção da terceira região determinante de complementaridade da IGH foram usados para amplificação e sequenciamento profundo com o propósito de identificar o clone leucêmico relativamente a amostras de referência (Adaptive Biotechnologies). A frequência do clone leucêmico em cada amostra foi calculada usando o número de leituras totais e produtivas únicas. Estes ensaios correlativos foram realizados em instantes definidos pelos protocolos clínicos respectivos em paralelo com avaliações da resposta à doença. Este ensaio clínico foi um estudo de tratamento único; as comparações entre pacientes no presente estudo foram definidas pelas respostas clínicas observadas. Os pesquisadores estavam cegos quanto às respostas clínicas, pois os ensaios correlativos foram conduzidos usando amostras de sujeitos com a identificação removida.

Citometria de Fluxo

[1083] Avaliações de rotina da expansão e persistência de CTL019 bem como carga de B-CLL no sangue e medula foram conduzidas de

acordo com métodos previamente publicados usando um citômetro de fluxo Accuri C6 de seis parâmetros (BD) (Kalos, M. *et al. Science translational medicine* 3, 95ra73, (2011); Porter, D. L. *et al. Science translational medicine* 7, 303ra139, (2015)). A imunofenotipagem de células T foi realizada em produtos de infusão de CTL019 ou amostras de PBMC pós-infusão por coloração de superfície com anticorpos de citometria de fluxo imediatamente após pré-incubação com corante de exclusão de células mortas Aqua Blue (Invitrogen). O anticorpo monoclonal conjugado a Alexa Fluor 647 que foi usado para detectar a molécula CAR foi descrito (Jena, B. *et al. PLoS One* 8, e57838, (2013)). Os anticorpos de citometria de fluxo comercialmente disponíveis usados no estudo são os seguintes: CD3 aloficocianina (APC) H7, CCR7 PE/CF594 (BD Biosciences); CD107a APC, (BD Biosciences); CD45RO violeta brilhante (BV) 570, CD8 BV650, CD4 BV785 (Biolegend); Perforina BV421, Ki-67 Alexa Fluor (AF) 700, TNFα BV605 (Biolegend); IFNγ PE, IL-2 PerCP-eFluor 710, Eomes FITC (eBioscience); Granzima B PE/Cianina5.5 (Invitrogen) e TCRVβ5.1 APC (eBioscience). O inibidor do transporte de proteínas GolgiStop contendo monensina e inibidor do transporte de proteínas GolgiPlug contendo brefeldina A (BD Biosciences) foram usados na coloração quanto à produção de citocinas intracelulares. Todos os reagentes de citometria de fluxo foram titulados antes do uso. As amostras foram adquiridas em um LSRFortessa (BD) e os dados foram analisados usando *software* FlowJo (TreeStar).

Sequenciamento profundo de TCRVβ

[1084] DNA genômico de células T pré-infusão, amostras de sangue periférico ou células T pós-infusão submetidas à triagem foram isolados usando o Kit de Sangue e Tecido DNeasy (Qiagen). O sequenciamento profundo de TCRVβ foi efetuado por immunoSEQ (Adaptive Biotechnologies). Apenas rearranjos produtivos de TCR foram usados na avaliação das frequências dos clonótipos de TCR.

Análise de Sítios de Integração

[1085] Os sítios de integração vetorial foram detectados a partir de DNA genômico como descrito previamente (Brady, T. *et al., Nucleic Acids Res* 39, e72 (2011); Berry, C. *et al., PLoS Comput Biol* 2, e157 (2006); Berry, C. C. *et al., Bioinformatics* 28, 755-762 (2012); Berry, C. C. *et al., Bioinformatics* 30, 1493-1500 (2014)). As sequências genômicas foram alinhadas com o genoma humano por BLAT (hg18, versão 36.1, >95% de identidade) e métodos estatísticos para análise de distribuições de sítios de integração foram empregues como previamente descrito (Scholler, J. *et al., Science translational medicine* 4, 132ra153 (2012)). O método SonicAbundance foi usado para inferir a abundância de clones de células a partir de dados de sítios de integração (Berry, C. C. *et al., Bioinformatics* 28, 755-762 (2012)). Todas as amostras foram analisadas independentemente em quadruplicado para suprimir efeitos fundadores na PCR e estocástica da amostragem.

Detecção de Transcritos Quiméricos de TET2

[1086] RNA de amostras foi isolado e usado como modelo com o Kit de RT-PCR Qiagen One-Step. Iniciadores foram planejados para visarem as fronteiras dos éxons 9 e 10 de *TET2*, flanqueando o sítio de integração vetorial e sequências internas ao vetor lentiviral anti-CD19BBζ CAR. Estes incluíram várias regiões da sequência vetorial (Figura 6A). As reações foram conduzidas seguindo as especificações do fabricante. As temperaturas da aplicação de ciclos térmicos e momento para a transcrição reversa e ativação por PCR foram conduzidos seguindo as diretrizes do fabricante, com as seguintes condições de aplicação de ciclos: 30 segundos a 94°C para a fusão, 30 segundos a 57°C para o emparelhamento de iniciadores e 1,5 minutos a 72°C para a extensão de iniciadores (35 ciclos). Uma extensão final a 72°C foi mantida durante 10 minutos para cada amostra. Os produtos

de PCR foram visualizados em géis de agarose com brometo de etídio (1,5% em peso) via eletroforese e imagiologia com UV.

Sequenciamento de geração seguinte de amostras de células T CAR pós-infusão

[1087] Células T CD8+ CAR+ e CAR- foram purificadas de amostras de PBMC pós-infusão correspondentes ao pico da expansão *in vivo* no Paciente 10. As células T foram submetidas à triagem usando um FACSAria (BD) e DNA genômico foi isolado destes linfócitos como descrito acima. Um painel de sequenciamento de geração seguinte direcionado customizado de 68 genes associados a malignidades hematológicas foi então utilizado (TruSeq Custom Amplicon, Illumina Inc.) e sequenciado no Illumina MiSeq (Illumina, Inc.). Foi alcançada uma profundidade média mínima de 2110 leituras para os espécimes sequenciados, com o ensaio e bioinformática realizados como previamente descrito, por exemplo, ver Daber, R., Sukhadia, S. & Morrissette, J. J. *Cancer Genet* 206, 441-448. Os dados apresentados são baseados na sequência de referência humana UCSC versão hg 19 (NCBI versão 37.1).

Determinação da integração do vetor albergando alelos de TET2

[1088] Foi desenvolvido um ensaio de PCR para amplificar a região de DNA (aproximadamente 4 kB) entre a integração do vetor e o lócus da mutação c.5635G>C. Foram planejados iniciadores para emparelharem com a sequência do vetor (MKL-3: 5'-CTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAG-3') e múltiplas localizações a jusante da mutação, chr4:105,276,145 (50 pb: 5' GCTGGTAAAAGACGAGGGAGATCCTG-3', 99 pb: 5'-GGCTTCCCAAAGAGCCAAGCCATG-3', 120 pb: 5'-CACGGGCTTTTTCAGCCATTTTGGC-3'). Amostras de DNA genômico de células T CD8+ CAR+ e CAR- submetidas à triagem correspondentes ao pico da expansão clonal no Paciente 10 foram

selecionadas para amplificação. Foram conduzidas reações de PCR com Taq polimerase Long Amp (New England BioLabs) e 100 – 400 ng de DNA de amostras, de acordo com recomendações do fabricante. A amplificação foi conduzida do modo seguinte: 94°C durante 30 segundos, 30 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos e 65°C durante 3 minutos e 20 segundos e uma extensão final de 65°C durante 10 minutos. Os produtos amplificados foram separados por eletroforese em um gel de agarose e brometo de etídio 1,0% e bandas predominantes com tamanho de 4 kb foram isoladas usando o Kit de Extração de Gel QIAquick (Qiagen). As bandas isoladas foram ligadas em vetores pCR2.1 e clonadas em células quimicamente competentes TOP-10 usando o Kit de Clonagem TOPO TA (Invitrogen). Os plasmídeos purificados foram sequenciados usando os iniciadores direto e reverso M13 usando tecnologia Sanger padrão. Os resultados do sequenciamento foram alinhados com a sequência do vetor e genoma de referência.

Caracterização da mutação de TET2 E1879Q

[1089] A variante TET2-CS humana previamente caracterizada e cristalizada (1129-1936 Δ1481-1843) foi expressa usando um vetor de expressão pLEXm. A mutação E1879Q ou mutação dos H1382Y e D1384A catalíticos (mutante HxD) foi gerada por meios comuns. Células T HEK293 foram cultivadas em DMEM com GlutaMAX (ThermoFisher Scientific) e FBS 10% (Sigma). As células foram transfectadas com hTET2-CS de tipo selvagem (TS), mutante ou um controle de vetor pLEXm vazio usando Lipofectamina 2000 (ThermoFisher Scientific) de acordo com o protocolo do fabricante. O meio foi mudado 24 horas após a transfecção e células foram recolhidas por tripsinização 48 horas após a transfecção e ressuspensas em solução salina tamponada com fosfato. DNA genômico foi isolado de quatro quintos das células usando o Kit de Sangue e Tecido DNeasy (Qiagen) e o restante um quinto das

células foram submetidas a lise usando o Reagente de Extração de Proteínas CytoBuster (EMD Millipore) para análise de transferência Western.

[1090] Colorações de DNA para modificações de citosina foram realizadas de acordo com protocolos estabelecidos. DNA purificado de células T HEK293 foi diluído para 15, 7,5 e 3,5 ng/µL em tampão Tris–EDTA (TE), pH 8,0 para diluições de duas vezes de cada amostra. Um quarto do volume de NaOH 2 M–EDTA 50 mM foi adicionado a cada amostra. O DNA foi desnaturado durante 10 minutos a 95°C e transferido rapidamente para gelo, seguido da adição de 1:1 acetato de amônio 2 M gelado. Membranas de Difluoreto de Polivinilideno (PVDF) foram cortadas ao tamanho, molhadas com MeOH e equilibradas em tampão TE e depois montadas no PR 648 Slot Blot Manifold (GE Healthcare Life Sciences). Cada poço foi lavado com 400 µL de TE aspirado com vácuo suave, e 600, 300 ou 150 ng de DNA genômico foram carregados, seguido de outra lavagem com TE. As membranas foram bloqueadas durante duas horas em leite 5%–TBST, lavadas três vezes com TBST e coradas a 4°C durante a noite com anticorpos primários contra cada citosina modificada — 1:5 000 anti-5-mC de camundongo (Abcam); 1:10 000 anti-5-hmC de coelho (Active Motif); 1:5 000 anti-5-fC de coelho (Active Motif); 1:10 000 anti-5-caC de coelho (Active Motif). As colorações foram depois lavadas, incubadas com uma diluição 1:2 000 de um anti-camundongo de cavalo secundário - peroxidase de rábano picante (HRP; Cell Signaling Technology) ou 1:5 000 anti-coelho de cabra-HRP (Santa Cruz Biotechnology) durante 2 horas, lavadas e visualizadas por imagiologia usando o Substrato de HRP Quimioluminescente Immobilon Western (Millipore) e o Amersham Imager 600 (GE Healthcare Life Sciences).

[1091] Para a detecção de proteínas, lisados celulares clarificados foram processados em géis de poliacrilamida com dodecilsulfato de

sódio (SDS–PAGE) 8%. Os géis foram transferidos em conjunto para uma membrana de PVDF usando o Dispositivo de Transferência de Gel iBlot 2 (ThermoFisher Scientific). As membranas foram bloqueadas durante 2 horas à temperatura ambiente com leite 5% (p/v) em solução salina tamponada com Tris com Tween-20 (TBST) 0,1% (v/v), lavadas ×3 com TBST e coradas com anticorpos primários 1:10 000 anti-FLAG M2 (Sigma) ou 1:1 000 anti-Hsp90α/β (Santa Cruz Biotechnology) a 4°C durante a noite. Após a incubação, as membranas foram lavadas e coradas com uma diluição 1:5 000 de um anti-camundongo de cabra secundário-HRP (Santa Cruz Biotechnology) durante duas horas, lavadas e visualizadas por imagiologia com Substrato de HRP Quimioluminescente Immobilon Western (Millipore) em um Amersham Imager 600 (GE Healthcare Life Sciences).

[1092] Para cromatografia líquida-espectrometria de massa em tandem (LC-MS/MS), 1-2 µg de DNA genômico de cada amostra foram degradados em nucleosídeos componentes com 1 U de DNA Degradase Plus (Zymo Research Corporation) a 37°C durante a noite. A mistura de nucleosídeos foi diluída dez vezes em ácido fórmico 0,1% e injetada em um HPLC Agilent Série 1200 com uma coluna analítica LC-18-S Supelcosil 5 µm, 2,1 × 250 mm (Sigma) equilibrada para 45°C em Tampão A (formato de amônio 5 mM, pH 4,0). Os nucleosídeos foram separados em um gradiente de 0–15% de Tampão B (formato de amônio 4 mM, pH 4,0, metanol 20% (v/v)) ao longo de 8 minutos a uma taxa de fluxo de 0,5 mL/minuto. MS/MS em tandem foi realizado no modo ESI de íons positivos em um espectrômetro de massa de triplo quadripolo 6460 (Agilent) com uma temperatura do gás de 250°C, um fluxo de gás de 12 L/minuto, uma pressão no nebulizador de 35 psi, uma temperatura do gás de bainha de 300°C, um fluxo do gás de bainha de 11 L/minuto, uma voltagem do capilar de 3 500 V, uma voltagem no fragmentador de 70 V e um EMV delta de +1 000 V. As energias de

colisão foram otimizadas para 10 V para 5-mC e 5-fC; 15 V para 5-caC; e 25 V para 5-hmC. As transições de massa da monitoração de múltiplas reações (MRM) foram 5-mC 242,11 126,066 m/z; 5-hmC 258,11 124,051; 5-fC 256,09 140,046; 5-caC 272,09 156,041; e T 243,10 127,050. Foram geradas curvas-padrão usando nucleosídeos-padrão (Berry & Associates, Inc.) variando desde 2,5 µM até 610 pM (12,5 pmol até 3 fmol no total). Oligonucleotídeos digeridos contendo quantidades equimolares de cada citosina modificada foram usados como amostras de controle de qualidade. As áreas dos picos das amostras foram ajustadas à curva padrão, ajustadas pelas amostras de controle de qualidade para determinar a quantidade de cada citosina modificada na amostra de DNA genômico. As quantidades são expressas em percentagem de modificações de citosinas totais.

Medição dos níveis totais de 5-hidroximetilcitosina

[1093] Células T CD8+ foram purificadas de amostras de PBMC pós-infusão usando o Kit de Seleção Negativa Imunomagnética de Células T CD8+ Humanas EasySep (StemCell Technologies) e expandidas *ex vivo* usando um protocolo de expansão rápida previamente relatado (Jin, J. *et al. J Immunother* 35, 283-292, (2012)). Após a cultura, células T CD8+ CAR+ TCRVβ5.1+ e CD8+ CAR- TCRVβ5.1- foram submetidas à triagem em um FACSAria (BD). As células foram permeabilizadas e tratadas com 300 µg/mL de DNase I durante 60 minutos a 37°C. Após lavagem, as amostras foram incubadas com um anticorpo monoclonal anti-5hmc ou um controle de isótipo durante 30 minutos, seguido de coloração com um anticorpo secundário conjugado a Alexa Fluor 647. As células foram imediatamente adquiridas em um LSRFortessa (BD).

Estabelecimento do perfil global de cromatina por ATAC-seq

[1094] Após a cultura, células T CD8+ CAR+ TCRVβ5.1+ e CD8+ CAR- TCRVβ5.1- foram submetidas à triagem em um FACSAria (BD).

ATAC-seq foi realizado como previamente descrito (Buenrostro, J. D. *et al. Nat Methods* 10, 1213-1218, (2013); Pauken, K. E. *et al. Science* 354, 1160-1165, (2016)). Efetuaram-se duas repetições para cada culturas de células T CD8+ CAR+ TCRVβ5.1+ e CD8+ CAR- TCRVβ5.1- expandidas *ex vivo*. Em resumo, núcleos foram isolados de 200 000 células T CD8+ submetidas à triagem para cada repetição, seguido da reação de transposição na presença de Tn5 transposase (Illumina) durante 45 minutos a 37°C. A purificação de DNA transposto foi subsequentemente completada com um Kit MinElute (Qiagen) e aos fragmentos foram atribuídos códigos de barras com índices duais (Illumina Nextra). O sequenciamento de extremidades emparelhadas (leituras 2 × 75 pb) foi realizado usando o Illumina NextSeq 500. Dados brutos do sequenciamento foram processados e alinhados com o genoma de referência GRC37h/hg19 usando Bowtie2 e regiões de enriquecimento significativo foram identificadas usando MACS v1.4.2. Foram criadas listas de picos incorporados usando BedTools, o enriquecimento de marcadores de sequenciamento ("sequencing tag enrichment") foi realizado usando HOMER e análise GO/Pathway foi realizada com Metascape. Apenas picos com elevado grau de confiança foram usados para ontologia genética e análises de motivos de DNA. Para estas avaliações, picos com uma pontuação de enriquecimento menor do que 5 foram descartados por filtração como previamente estabelecido.

Análise de citocinas intracelulares

[1095] Células T CD8+ expandidas *ex vivo* foram estimuladas 3:1 com esférulas paramagnéticas de poliestireno revestidas com anticorpos monoclonais anti-CD3 e anti-CD28 durante 6 horas na presença de um anticorpo monoclonal para CD107a e os inibidores de Golgi brefeldina A e monensina. As células foram lavadas, coradas com corante de viabilidade vivo/morto, seguido de coloração de superfície quanto a CD3,

CD8 e TCRVβ5.1+. Estes linfócitos foram subsequentemente fixados/permeabilizados e corados intracelularmente quanto a IFN-γ. As células foram analisadas em um LSRFortessa (BD).

Ensaio da potência da diferenciação e expansão de células T CAR

[1096] Células T humanas primárias em volume foram ativadas com esférulas paramagnéticas de poliestireno revestidas com anticorpos monoclonais anti-CD3 e anti-CD28 como previamente descrito (Laport, G. G. *et al. Blood* 102, 2004-2013 (2003)) e transduzidas com vetores lentivirais codificando as sequências em grampo de anti-CD19BBζ CAR e shRNA visando TET2 ou um controle embaralhado com coexpressão de GFP (Cellecta). A eficiência do silenciamento em células T após transdução de shRNA foi determinada por PCR quantitativa em tempo real com ensaios de expressão genética Taqman (Applied Biosistemas) quanto a TET2 (ensaio Hs00325999_m1) e GAPDH (ensaio (Hs03929097_g1) bem como GUSB (Hs99999908_m1) que serviram de controles de carga e normalização. Após 14 dias de cultura, o fenótipo de diferenciação destas células foi determinado por citometria de fluxo. Células T CAR+ GFP+ foram submetidas à triagem em um FACSAria (BD) e combinadas 1:1 com células K562 irradiadas manipuladas para expressarem CD19[6] ou mesotelina como controle negativo. Células CTL019 foram novamente estimuladas em série com alvos de K562 irradiados em um total de 3 vezes, com avaliações de contagens absolutas e viabilidade efetuadas em intervalos regulares ao longo de 17 dias. As medições de contagens de células e viabilidade foram obtidas usando o Contador de Células Automatizado LUNA (Logos Biosystems). Duplicações da população foram calculadas usando a equação $A_t = A_0 2^n$, em que *n* é o número de duplicações da população, A_0 é o número de células de entrada e A_t é o número total de células. Sobrenadantes foram recolhidos 24 horas após cada re-estimulação para medições longitudinais de níveis de citocinas em culturas.

Análise de citocinas, perforina e granzima B intracelulares.

[1097] Células T CD8+ do Paciente 10 foram estimuladas 3:1 com esférulas paramagnéticas de poliestireno revestidas com anticorpos monoclonais anti-CD3 e anti-CD28 durante 6 horas na presença de um anticorpo monoclonal para CD107a e os inibidores de Golgi brefeldina A e monensina. As células foram lavadas, coradas com corante de viabilidade vivo/morto, seguido de coloração de superfície quanto a CD3, CD8 e TCRVβ5.1+. Estes linfócitos foram subsequentemente fixados/permeabilizados e corados intracelularmente quanto a IFNγ. Células T CAR geradas a partir de doadores saudáveis (silenciamento de TET2 ou controle) foram estimuladas do mesmo modo com esférulas de CD3/CD28 ou esférulas revestidas com um anticorpo anti-idiotípico contra CAR19. As células foram então coradas quanto a marcadores de superfície (CD3, CD4, CD8 e CAR19). Após fixação e permeabilização foi efetuada coloração intracelular quanto a IFNγ, TNFα e IL-2.

[1098] Para a análise de perforina e granzima B, células CTL019 que haviam sido transduzidas com um shRNA de TET2 ou de controle embaralhado foram expandidas durante 14 dias e crioconservadas. Estas células T CAR foram então descongeladas e repousaram durante 4 horas, seguido de coloração vivo/morto e de superfície quanto a CD3, CD8 bem como CAR19. A coloração intracelular quanto a perforina e granzima foi efetuada após fixação e permeabilização. As células foram analisadas em um LSRFortessa (BD).

Ensaio de citotoxicidade.

[1099] Células CTL019 de doadores saudáveis transduzidas com um shRNA dirigido contra TET2 ou um controle embaralhado foram cocultivadas com linhagens de células NALM-6 e OSU-CLL expressando CBG luciferase nas razões indicadas durante 16 horas. Foram criados extratos celulares usando o Sistema de Ensaio de Luciferase Bright-Glo (Promega Corporation) e substrato foi adicionado

de acordo com as instruções do fabricante. As medições de luciferase foram tiradas em um leitor de microplacas de luminescência SpectraMax (Molecular Devices) e a lise específica foi calculada.

Análise de níveis de expressão do gene TET2 em subconjuntos de células T.

[1100] Os níveis de expressão do gene TET2 foram determinados analisando um conjunto de dados de expressão genética publicado quanto a subconjuntos de células T CD8+ (Virgens, TN; Células-Tronco de Memória, TSCM; Memória Central, TCM; e Memória Efetora, TEM) isoladas de 3 sujeitos humanos saudáveis diferentes. Os dados de Genechip (Affymetrix) foram processados com o pacote de *software* Bioconductor Oligo (tiragem 3.6, Bioconductor) usando o método RMA.

Análises estatísticas

[1101] A normalidade foi avaliada para todos os dados usando o teste Omnibus de D'Agostino-Pearson. Quando o tamanho das amostras foi demasiado pequeno para examinar adequadamente a normalidade, foi usada estatística não paramétrica. Para a análise de dados de sítios de integração, comparações de dados de características genômicas foram efetuadas como previamente descrito usando X^2, testes exatos de Fisher ou uma combinação de cálculo de médias do modelo Bayesiano, logit condicional e regressão (Berry, C. *et al. PLoS Comput Biol* 2, e157 (2006); Brady, T. *et al. Genes Dev* 23, 633-642, (2009); Berry, C. *et al. PLoS Comput Biol* 2, e157, (2006); Ocwieja, K. E. *et al. PLoS Pathog* 7, e1001313, (2011)). A avaliação de fenótipos de diferenciação de células T em experiências de silenciamento de *TET2* mediado por shRNA foi realizada usando um teste *t* de Student emparelhado. Com 12 doadores normais é alcançada uma potência de 88% para detectar um tamanho de efeito mínimo de 1,0 (na unidade do desvio padrão) usando um teste *t* de Student emparelhado de dois lados. As estimativas da variação dentro de cada grupo de dados são

apresentadas como barras de erro nas figuras. As análises foram realizadas com SAS (SAS Institute Inc.), Stata 13.0 (StataCorp) ou GraphPad Prism 6 (GraphPad Software). Todos os testes tiveram dois lados. Um valor $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

[1102] Sem descrição adicional, se crê que o perito na técnica pode, usando a descrição precedente e os seguintes exemplos ilustrativos, preparar e utilizar os compostos da presente invenção e praticar os métodos reivindicados. Os seguintes exemplos de trabalho salientam especificamente vários aspectos da presente invenção, e não devem ser considerados limitadores de modo nenhum do restante da revelação.

EQUIVALENTES

[1103] As descrições de cada uma e todas as patentes, pedidos de patentes e publicações citados aqui são deste modo incorporadas aqui a título de referência na sua totalidade. Embora esta invenção tenha sido revelada com referência a aspectos específicos, é evidente que outros aspectos e variações desta invenção podem ser concebidos por outros peritos na técnica sem abandonar o verdadeiro espírito e escopo da invenção. É pretendido que seja considerado que as reivindicações adjuntas incluem todos esses aspectos e variações equivalentes.

Apêndice

Tabela 9. Relatórios da análise de enriquecimento de conjuntos de genes mostrando vias e conjuntos de genes Hallmark GO e KEGG associados a picos ATAC-seq perdidos em células T CD8+CAR+ em comparação com CD8+CAR- do Paciente T *

	Coluna A	Coluna B	Coluna C	Coluna D
	Grupo ID Categoria Termo Descrição	LogP Log(valor q) InTerm_InList	Genes	Símbolos
1	1_Resumo GO Processos Biológicos GO:0002521 diferenciação de leucócitos	-15,06239065 -10,880 93/453	301,302,399,537,558,596,604,639,677,814,841,860,861,914,925,940,942,944,1015,1021,1230,1236,1316,1380,1435,1436,1437,1499,1540,1794,1880,1960,2185,2353,2625,3442,3458,3516,3559,3567,3575,3592,3600,3624,3635,3688,3702,3963,4057,4208,4802,4853,5295,5591,5734,6095,6304,6504,6670,6850,7048,7071,7292,7301,7704,8111,8320,8600,8767,8995,9290,9308,9734,9855,10100,10125,10221,10320,23228,26191,27086,30809,51208,55904,64218,80762,84456,84959,114548,146850,149233,338339,387357,836,911,919,921,960,1525,2534,2796,3037,3077,3479,3481,4083,5063,5290,6441,6885,7356,8440,9402,10507,11148,29851,54518,56940,57162,57829,64581,79109,84174,120425,151888,253260,81,154,335,831,1906,1907,2153,2157,2244,2335,2768,2776,3596,3708,3709,3937,4773,5054,5321,5551,5579,5770,5791,5912,7114,7294,7424,7476,7534,8525,8660,9173,9948,10257,10451,10487,10666,10672,11093,54331,57181,64092,117194,124912,168667,4478,4907,965,1946,1956,3384,3557,3911,3987,4092,4653,4815,4897,5962,6239,6480,9231,9369,10049,10563,22862,23396,23607,26999,29110,55243,91663,255743,27,284,347,3673,4008,5728,5793,5795,5800,5921,6423,7402,8573,9267,9891,10395,23122,23499,25975,54566,79625,375056,103,1030,2034,2113,2296,2672,5305,7049,7520,8621,10296,23335,23343	ANXA1,ANXA2,RHOH,ATP6AP1,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CAMK4,CASP8,RUNX2,RUNX3,CD2,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CDH17,CDK6,CCR1,CCR7,KLF6,CR2,CSF1,CSF1R,CSF2,CTNNB1,CYLD,DOCK2,GPR183,EGR3,PTK2B,ICOS,GATA3,IFNA5,IFNG,RBPJ,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL15,INHBA,INPP5D,ITGB1,ITK,LGALS9,LTF,MEF2C,MYB,NOTCH2,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,RORA,SATB1,SLAMF1,SP3,SYK,TGFBR2,KLF10,TNFSF4,TYRO3,ZBTB16,GPR68,EOMES,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,GPR55,CD83,HDAC9,PARP2,TSPAN2,RASGRP1,TRIB1,IKZF1,PLCL2,PTPN22,FOXP1,TBX21,CLDN18,KMT2E,SEMA4A,NDFIP1,L3MBTL3,UBASH3B,NLRP3,PIK3R6,IL23R,CLEC4D,THEMIS,CASP3,CD1C,CD247,CD5,CD44,CXADR,FYN,GNRH1,HAS2,HFE,IGF1,IGF2,LMO1,PAK3,PIK3CA,SFTPD,MAP3K7,SCGB1A1,NCK2,GRAP2,SEMA4D,HHLA2,ICOS,APBB1IP,DUSP22,PELI1,ZP4,CLEC7A,MAPKAP1,SLA2,JAML,BTLA,RICTOR,ACTN4,ADRB2,APOA1,CAST,EDN1,EDN2,F5,F8,FGB,FN1,GNA12,GNAQ,IL13,ITPR1,ITPR2,LCP2,NFATC2,SERPINE1,PLA2G4A,PRF1,PRKCB,PTPN1,PTPRE,RAP2B,TMSB4X,TXK,VEGFC,WNT7A,YWHAZ,DGKZ,IRS2,IL1RL1,WDR1,ABCC4,VAV3,CAP1,CD226,GNA13,ADAMTS13,GNG2,SLC39A10,SAMSN1,MRGPRX2,SPACA3,BMPER,MSN,NT5E,CD58,EFNA5,EGFR,ICAM2,ILIRN,LAMA5,LIMS1,SMAD7,MYOC,NINJ2,NRCAM,RDX,RREB1,ST6GAL1,DLG5,NRXN3,DNAJB6,CXCL13,FNDC3A,PIP5K1C,CD2AP,CYFIP2,CTNNA3,KIRREL,MYADM,NPNT,ABL2,ANGPT1,APOD,ITGA2,LMO7,PTEN,PTPRG,PTPRJ,PTPRO,RASA1,SFRP2,IFTBN,CASK,CYTH1,NUAK1,DLC1,CLASP2,MACF1,EGFL6,EPB41L4B,NDNF,MIA3,ADAR,CDKN2B,EPAS1,

			,23648,29976,28996,29909,51021,54502,54790,57623,85439,85477,115727,3720,10018,1233,23239,5789,9076,55714,60437	ETS1,FOXC1,GFI1,PIP4K2A,TGFBR3,XBCC5,CDK13,MAEA,WDR7,RBFOX2,SSBP3,TIPARP,HIPK2,GPR173,KLF13,RBM47,TET2,ZFAT,STON2,SCIN,RASGRP4,JARID2,BCL2L11,CCR4,PHLPP1,PTPRD,CLDN1,FEN3,CDH26
2	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002521 diferenciação de leucócitos	-15,0623,99063 -10,880 93,433	301,302,399,537,558,596,604,639,677,814,841,860,861,914,925,940,942,944,1013,1021,1230,1236,1316,1380,1435,1436,1437,1499,1540,1794,1880,1960,2185,2353,2625,3442,3458,3516,3539,3567,3575,3592,3600,3624,3635,3688,3702,3965,4057,4208,4692,4853,5295,5591,5734,6095,6304,6504,6670,6850,7048,7071,7292,7301,7704,8111,8320,8600,8767,8995,9290,9308,9734,9835,10100,10125,10221,10320,23228,26191,27086,30899,51208,58904,64218,80762,84456,84959,114548,146850,149233,387357	ANXA1,ANXA2,RHOH,ATP6AP1,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CRKL,RDM1,ZFP36L1,CAMK4,CASP8,RUNX2,RUNX3,CD247,CD3,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CD244,CDK6,CCR7,CTNNB1,CNADR,CYLD,DOCK2,ICR3,FYN,GATA3,GNRH1,HAS2,HFE,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL3RA,IL7R,IL12A,IL15,ITK,LGALS9,LMO1,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRNP,PTGER4,RORA,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,SCGB1A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,SEMA4D,HFE,IL2,PTPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,APBB1IP,DUSP22,PELI1,ZP4,SEMA4A,CLEC7A,MAP4K4,RUNX2,CD2,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CD244,CDK6,CCR7,KLF6,CD2,CTNNB1,CYLD,DOCK2,GFBR2,KLF10,TNFSF4,TYRO3,ZBTB16,GPR68,EOMES,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,GPR55,CD83,HDAC9,ARP2,TSPAN2,RASGRP1,TRIB1,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CRKL,FOXP1,TBX21,CLDN18,KMT2E,SEMA4A,NDFIP1,L3MBTL3,UBASH3B,NLRP3,PIK3R6,IL23R,CLEC4D,THEMIS
3	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0030098 diferenciação de linfócitos	-14,43600319 -10,642 78,299	301,399,556,596,604,639,677,814,860,914,925,940,942,944,1015,1021,1236,1316,1380,1499,1540,1794,1880,1960,2185,2625,3442,3458,3516,3539,3575,3592,3680,3624,3635,3688,3702,3965,4692,4853,5295,5734,6095,6304,6504,6670,6850,7048,7292,7301,7704,8320,8767,8995,9308,9734,10125,10320,23228,26191,27086,30899,64218,80762,114548,146850,149233,387357	ANXA1,RHOH,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CAMK4,RUNX2,CD2,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CD244,CDK6,CCR7,KLF6,CD2,CTNNB1,CYLD,DOCK2,GPR183,HDAC9,PTX3R,GATA3,IFNA5,IFNG,RBPJ,IL2RA,IL15,INHBA,INPP5D,ITGB1,ITK,LGALS9,MYB,NOTCH2,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,RORA,SATB1,SLAMF1,SP3,SYK,TGFBR2,TNFSF4,TYRO3,ZBTB16,EOMES,NFIC2,TNFSF18,CD83,HDAC9,RASGRP1,IKZF1,PLCL2,PTPN22,FOXP1,TBX21,SEMA4A,NDFIP1,NLRP3,PIK3R6,IL23R,CLEC4D,THEMIS
4	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0070486 agregação de leucócitos	-14,38232891 -10,642 89,436	301,399,596,604,677,814,836,841,860,911,914,919,921,925,940,942,944,990,1021,1236,1499,1525,1540,1794,1960,2534,2623,2796,3037,3077,3442,3458,3479,3481,3539,3592,3600,3702,3965,4004,4602,5063,5290,5295,5591,5734,6095,6304,6504,6670,6850,6885,7048,7292,7356,7704,8320,8440,8600,8767,8995,9308,9402,10125,10507,11148,26191,27086,29851,30899,54518,56940,57162,57829,64218,64581,79109,80762,84174,114548,120425,1	ANXA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1,CAMK4,CASP3,CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD3,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CD244,CDK6,CCR7,CTNNB1,CNADR,CYLD,DOCK2,ICR3,FYN,GATA3,GNRH1,HAS2,HFE,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL3RA,IL7R,IL12A,IL15,ITK,LGALS9,LMO1,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRNP,PTGER4,RORA,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,SCGB1A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,SEMA4D,HFE,IL2,PTPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,APBB1IP,DUSP22,PELI1,ZP4,SEMA4A,CLEC7A,MAP4K4

			468850,149233,151888,253260,338339,387357	PIK3AP1,NDFIP1,SLA2,NLRP3,JAML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,CLEC4D,THEMIS
5	L_Membro GO Processos Biológicos GO:0001775 ativação de células	-14,123383739 -10,642 153,4953	81,134,381,335,399,588,596,604,639,677,814,831,836,841,860,911,914,919,921,925,940,942,944,1115,1021,1236,1316,13801,1435,1437,1499,1525,15401,1794,18801,1906,1907,1960,2153,2157,2185,2244,2335,2534,2625,2768,2776,2796,3077,3442,3458,3479,3481,3516,3559,3567,3575,3592,3596,3800,3824,3835,3688,3702,3708,3709,3937,3965,4004,4208,4602,4773,4853,5034,5083,5290,5295,5321,5551,5579,5591,5734,5770,5791,5912,6095,6304,6441,6504,6670,6850,6885,7048,7114,7292,7384,7301,7356,7424,7476,7534,7704,8320,8440,8525,8640,8660,8767,8995,9173,9368,9402,9734,9948,10125,10257,10320,10451,10487,10666,10672,11093,11848,23228,26191,27686,29851,54331,54518,55904,56940,57162,57181,57829,64092,64218,64581,79109,80762,84174,84959,114548,117194,120425,125912,146850,149233,151888,253260,338339,387357	ACTN4,ADRB2,ANXA1,APOA1,RHOH,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,C3,CAMK4,CAST,CASP3,CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD5,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CDH17,CDK6,CCR7,KLF6,CR2,CSF1,CSF2,CTNNB1,CXADR,CYLD,DOCK2,GPR183,EDN1,EIF2B3,F8,PTK2B,FGB,FN1,FYN,GATA3,GNA12,GNAQ,GNRH1,HFE,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,RBP1,IL23A,IL5,IL7R,IL12A,IL12B,IL15,INHBA,ENPP2,ITGB1,JUN,KITLG,EPOR,LTF,LTB,LTBR,MAP3K7,MEF2C,MYB,NFATC2,NOTCH2,SERPINE1,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PPP3CA,PRKCB,PTGER4,PTPN1,PTPRC,RAP2B,RORA,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,TGFBR2,TMSB4X,TNFSF4,TNK,TYRO3,SCG3,AP3K7,TGFBR2,TMSB4X,TNFSF4,TNK,TYRO3,SCG5,B1A1,VEGFC,WNT7A,YWHAZ,ZBTB16,IDOMES,NCK2,DOK2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,TNFSF18,IL1RL1,CD83,GRAP2,HDAC9,WDR1,RASGRP1,ABCC3,IKZF1,AV3,CAP1,CD226,GNA13,ADAMTS13,HHLA2,PLCL2,PTPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,GNG2,APBB1IP,KMT2E,DUSP22,PELI1,SLC39A10,ZP4,SAMSN1,SEMA4A,CLEC7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,IBASH3B,NLRP3,MRGPRX2,JAML,SPAC,A3,PIK3R6,IL23R,BTLA,BMPER,RICTOR,CLEC4D,THEMIS
6	L_Membro GO Processos Biológicos GO:0046649 ativação de linfócitos	-13,97254737 -10,568 112,6618	301,399,558,596,604,639,677,814,836,841,860,911,914,919,921,925,940,942,944,1015,1021,1236,1316,1380,1499,1525,1540,1794,1880,1960,2185,2334,2625,2776,3077,3442,3458,3479,3481,3516,3559,3567,3575,3592,3596,3600,3624,3635,3688,3702,3965,4004,4208,4602,4773,4853,5063,5290,5295,5551,5579,5591,5734,6095,6304,6441,6504,6670,6850,6885,7048,7292,7301,7356,7704,8320,8440,8660,8767,8995,9402,9734,10125,10320,10451,10487,10666,11848,23228,26191,27686,29851,30009,54331,54518,55904,56940,57162,57181,57829,64092,64218,64581,79109,80762,84174,114548,120425,146850,149233,151888,253260,338339,387357,9,387357	ANXA1,RHOH,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CAMK4,CASP3,CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD5,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CDH17,CDK6,CCR7,KLF6,CR2,CTNNB1,CXADR,CYLD,DOCK2,GPR183,EGR3,PTK2B,FYN,GATA3,GNRH1,HFE,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,RBP1,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL12B,IL15,INHBA,ENPP2,ITGB1,JUN,KITLG,EPOR,LTF,LTB,LTBR,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,TNFSF18,IL1RL1,CD83,GRAP2,HDAC9,WDR1,RASGRP1,ABCC3,IKZF1,VAV3,HHLA2,PLCL2,PTPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,APBB1IP,DUSP22,PELI1,SLC39A10,ZP4,SAMSN1,SEMA4A,CLEC7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,NLRP3,JAML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,CLEC4D,THEMIS

7	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0007159 adesão célula-célula de leucócitos	-13,646766655 -10,309 92469	301,399,596,604,677,814,836,841,860,911 ,914,919,921,925,940,942,944,960,1021,1 236,1499,1525,1540,1794,1960,2534,2625 ,2796,3037,3077,3442,3458,3479,3481,35 59,3575,3592,3602,3688,3702,3965,4004, 4478,4602,4907,5063,5290,5295,5591,573 4,6095,6304,6441,6504,6670,6850,6885,7 048,7292,7356,7704,8320,8440,8600,8767 ,8995,9308,9402,10123,10507,11148,2619 1,27086,29851,30809,54518,56940,57162, 57829,64218,64588,79109,80763,84174,1 14548,120425,146850,149233,151888,253 260,338339,387357	ANXA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1,CAMK4,CASP3, CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD5,CD8A,CD28, CD86,TNFSF8,CD44,CDK6,CCR7,CTNNB1,CXADR,C YLD,DOCK2,EGR3,FYN,GATA3,GNRH1,HAS2,HIF1, IFNAS,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,ITG B1,ITK,LGALS9,LMO1,MSN,MYB,NFSF8,PAK3,PIK3 CA,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,RORA,SATB1,SFTPD,S LAMF1,SP3,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,SCGB1 A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF8 ,CD83,GRAP2,RASGRP1,SEMA4D,HHLA2,PTPN22,F OXP1,ICOS,TBX21,APBB1IP,DUSP22,PELI1,ZP4,SE MA4A,CLEC7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,NLRP3,JA ML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,CLEC4D,THEMIS
8	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0042110 ativação de células T	-13,409917032 -10,214 86428	301,399,596,604,677,814,836,841,860,911 ,914,919,921,925,940,942,944,1021,1236, 1499,1525,1540,1794,1960,2534,2625,279 6,3077,3442,3458,3479,3481,3559,3575,3 592,3602,3702,3965,4004,4602,5063,5290 ,5295,5591,5734,6095,6304,6441,6504,66 70,6850,6885,7048,7292,7356,7704,8320, 8440,8600,8767,8995,9308,9402,10123,11 148,26191,27086,29851,30809,54518,569 40,57162,57829,64218,64588,79109,80776 2,84174,114548,120425,146850,149233,1 51888,253260,338339,387357	ANXA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1,CAMK4,CASP3, CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD5,CD8A,CD28, CD86,TNFSF8,CD44,CDK6,CCR7,CTNNB1,CXADR,CYLD, DOCK2,EGR3,FYN,GATA3,GNRH1,HIF1,IFNAS,IFN G,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,ITK,LGALS9,L MO1,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,R ORA,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,MAP3K7,TGF BR2,TNFSF4,SCGB1A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFS F11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2 ,PTPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,APBB1IP,DUSP22,PELI 1,ZP4,SEMA4A,CLEC7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,N LRP3,JAML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,CLEC4D, THEMIS
9	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0070489 agregação de células T	-13,409917032 -10,214 86428	301,399,596,604,677,814,836,841,860,911 ,914,919,921,925,940,942,944,1021,1236, 1499,1525,1540,1794,1960,2534,2625,279 6,3077,3442,3458,3479,3481,3559,3575,3 592,3602,3702,3965,4004,4602,5063,5290 ,5295,5591,5734,6095,6304,6441,6504,66 70,6850,6885,7048,7292,7356,7704,8320, 8440,8600,8767,8995,9308,9402,10123,11 148,26191,27086,29851,30809,54518,569 40,57162,57829,64218,64588,79109,80776 2,84174,114548,120425,146850,149233,1 51888,253260,338339,387357	ANXA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1,CAMK4,CASP3, CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD5,CD8A,CD28, CD86,TNFSF8,CDK6,CCR7,CTNNB1,CXADR,CYLD, DOCK2,EGR3,FYN,GATA3,GNRH1,HIF1,IFNAS,IFN G,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,ITK,LGALS9,L MO1,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,R ORA,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,MAP3K7,TGF BR2,TNFSF4,SCGB1A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFS F11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2 ,PTPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,APBB1IP,DUSP22,PELI 1,ZP4,SEMA4A,CLEC7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,N LRP3,JAML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,CLEC4D, THEMIS
10	1_ Membro	-13,396538694	301,399,558,596,604,639,677,814,836,841	ANXA1,RHOH,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,C

	GO Processos Biológicos GO:0045321 ativação de leucócitos	-10,214 123,719	866,911,914,919,921,925,940,942,944,10 15,1021,1236,1316,1380,1435,1437,1499, 1525,1540,1794,1880,1908,1907,1960,218 5,2534,2625,2796,3077,3442,3458,3479,3 481,3516,3559,3567,3575,3592,3596,3600 ,3624,3635,3688,3702,3937,3965,4004,42 08,4602,4773,4853,5063,5260,5295,5551, 5579,5591,5734,5791,6095,6304,6441,650 4,6870,6890,6985,7048,7292,7301,7356,7 704,8329,8440,8600,8660,8767,8995,9173 ,9308,9402,9734,10125,10329,10453,1066 6,11148,23228,26191,27080,29851,30899, 34518,35904,36940,57162,57181,57829,6 4092,64218,64381,79109,80762,84174,11 4548,117194,128625,129912,140850,1492 33,151888,253260,338339,387357	AMK4,CASP3,CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD5 ,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CDH17,CDK6,CCR7,KLF 6,CR2,CSF1,CSF2,CTNNB1,CXADR,CYLD,DOCK2,G PR183,EDN1,EDN2,EGR3,PTK2B,FYN,GATA3,GNR H1,HFE,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,RBP1,IL2RA,IL5,IL7 R,IL12A,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,ITGB1,ITK,LCP2, LGALS9,LMO1,MEF2C,MYB,NFATC2,NOTCH2,PAK 3,PIK3CA,PIK3R1,PRF1,PRKCB,PRKDC,PTGER4,PT PRE,RORA,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,MAP3 K7,TGFBR2,TNFSF4,TYRO3,SOCS1,A1,ZBTB16,EO MES,NCK2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,TNFSF18,IL1RL1,C D83,GRAP2,HDAC9,RASGRP1,IKZF1,VAV3,CD226, HHLA2,PLCL2,FFPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,APBB1I P,KMT2E,DUSP22,PELI1,SLC39A10,ZP4,SAMSN1,SE MA4A,CLEC7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,NLRP3,MR GPRX2,JAML,SPACA3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR ,CLEC4D,THEMIS
11	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0071593 agregação de linfócitos	-13,348885572 -10,208 86439	301,399,596,604,677,814,836,841,860,911 ,914,919,921,925,940,942,944,1021,1236, 1499,1525,1540,1794,1960,2534,2625,279 6,3077,3442,3458,3479,3481,3559,3575,3 592,3600,3702,3965,4004,4602,5063,5260 ,5295,5591,5734,6095,6304,6441,6504,66 70,6850,6885,7048,7292,7356,7704,8329, 8440,8600,8767,8995,9308,9402,10125,11 148,26191,27080,29851,30899,54518,5699 40,57162,57829,64218,64381,79109,80762 2,84174,114548,120425,146850,149233,1 51888,253260,338339,387357	ANXA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1,CAMK4,CASP3, CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,CD5,CD8A,CD28, CD86,TNFSF8,CDK6,CCR7,CTNNB1,CXADR,CYLD, DOCK2,EGR3,FYN,GATA3,GNRH1,HFE,IFNA5,IFN G,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,ITK,LGALS9,L MO1,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,R BL2,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,MAP3K7,TGF BR2,TNFSF4,SOCS1,A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFS F11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2 ,PTPN22,FOXP1,ICOS,TBX21,APBB1IP,DUSP22,PELI 1,ZP4,SEMA4A,CLEC7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,N LRP3,JAML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,CLEC4D, THEMIS
12	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0098602 adesão de células de organismo único	-13,264734492 -10,161 127,7755	81,154,301,335,399,558,596,604,677,814, 836,841,860,911,914,919,921,925,940,942 ,944,960,965,1021,1236,1499,1525,1540,1 794,1946,1956,1960,2244,2335,2534,2625 ,2796,3037,3077,3384,3442,3458,3479,34 81,3557,3559,3575,3592,3600,3688,3702, 3911,3965,3987,4004,4092,4478,4602,465 3,4815,4897,4907,5063,5260,5295,5591,5 734,5912,5962,6095,6239,6304,6441,6480 ,6504,6670,6850,6885,7048,7292,7301,73	ACTN4,ADRB2,ANXA1,APOA1,RHOH,AXL,BCL2,B CL6,ZFP36L1,CAMK4,CASP3,CASP8,RUNX2,CD1C, CD2,CD247,CD5,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CD44,C D58,CDK6,CCR7,CTNNB1,CXADR,CYLD,DOCK2,EF NA5,EGFR,EGR3,FCGR3,FCN1,FYN,GATA3,GNRH1,HA S2,HFE,ICAM2,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL1RN,IL3RA ,IL7R,IL12A,IL15,ITGB1,ITK,LAMA5,LGALS9,LIMS 1,LMO1,SMAD7,MSN,MYB,MYOC,NINJ2,NRCAM,N TSE,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,RAP2B, RDX,RORA,RREB1,SATB1,SFTPD,STEGAL1,SLAMF

			56,77044,8320,84440,8600,87767,89905,92231, 93308,93699,94402,100949,101125,103017,10536 3,118148,22862,23396,23607,26191,26999, 27086,29119,29851,30009,54518,55243,5 6940,57162,57829,64218,64581,79109,80 762,84174,84959,91663,114548,120425,1 46850,149233,151888,253260,255743,338 339,387357	1,SP3,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,TYRO3,SCGB 1A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF1 8,DLG5,CD83,NRAS,GRAP2,DNAJB6,RASGRP1,SE MA4D,CXCL13,HHLA2,PNPLA2,PTPN22,CD2AP,P TPN22,CYTIP2,FOXP1,CTNNA3,ICOS,TBX21,APBB1 IP,KIRREL,DUSP22,PELI1,ZP4,SEMA4A,CLEC7A,M APKAP1,NDFIP1,SLA2,UBASH3B,MYADM,NLRP3,J AML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,NPNT,CLEC4D,T HEMIS
13	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0030155 regulação da adesão celular	-13,18977525 -10,121 111,6026	27,81,154,284,301,335,347,596,604,814,8 36,914,919,923,940,942,960,1021,1236,14 33,1499,1540,1946,1960,2185,2244,2335, 2534,2623,2706,3037,3077,3458,3479,348 1,3557,3559,3573,3592,3680,3673,3688,3 911,3963,3987,4004,4008,4092,4602,4693 ,5054,5063,5290,5295,5728,5734,5793,57 95,5800,5921,5962,6239,6423,6441,6480, 6504,6850,6885,7048,7292,7336,7402,742 4,7704,8440,8573,8600,8767,8995,9267,9 308,9402,9891,101125,103995,104351,10507, 10563,111148,23122,23499,25975,261912 9851,54518,54566,56940,57162,57829,79 109,79625,80762,84959,91663,114548,14 6850,149233,151888,253260,255743,3750 56	ABL2,ACTN4,ADRB2,ANGPT1,ANXA1,APOA1,APO D,BCL2,BCL6,CAMK4,CASP3,CD2,CD247,CD5,CD28 ,CD86,CD44,CDK6,CCR7,CSF1,CTNNB1,CYLD,EFN A5,EGR3,PTK2B,FGB,FN1,FYN,GATA3,GNRH1,HAS 2,HPE,IFNG,IGF1,IGF2,IL1RN,IL2RA,IL7R,IL12A,IL1 3,ITGA2,ITGB1,LAMA5,LGALS9,LIMS1,MCL1,MO 7,SMAD7,MYB,MYOC,SERPINE1,PAK3,PIK3CA,PIK 3R1,PTEN,PTGER4,PTPRG,PTPRJ,PTPRO,RASA1,RD X,RRBP1,SFRP2,SPTPD,ST6GAL1,SLAMF1,SYK,MA P3K7,TGFBR2,TNFSF4,SCGB1A1,UTRN,VEGFC,ZB TB16,NCK2,CASK,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,CYTH1 ,CD83,GRAP2,NLRC4,RASGRP1,DLC1,VAV3,SEMA 4D,CXCL13,HHLA2,C1QA,SP2,MACF1,EGFLA,PTPN22 ,ICOS,APBB1IP,EPB41L4B,DUSP22,PELI1,ZP4,MAP KAP1,NDNF,NDFIP1,UBASH3B,MYADM,NLRP3,PI K3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,NPNT,MIA3
14	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0030097 hemopoiese	-13,085377188 -10,919 120,7782	103,284,301,302,399,537,538,590,604,639 ,677,814,836,841,860,861,913,925,948,94 2,944,1015,1021,1030,1230,1236,1316,13 80,1435,1436,1437,1499,1540,1794,1880, 1960,2034,2113,2185,2296,2353,2625,267 2,3442,3458,3516,3559,3567,3575,3592,3 600,3624,3635,3688,3702,3965,4057,4208 ,4602,4853,5295,5305,5591,5734,6095,63 04,6423,6504,6670,6850,7048,7049,7071, 7292,7301,7320,7704,8111,8320,8600,8862 ,8767,8995,9290,9308,9734,9855,10180, 10125,10221,10296,10320,22228,23335,2 3543,23648,25976,26191,27086,28996,29 909,30809,51268,51621,54802,54790,559 04,57623,64218,80762,84436,84959,8543	ADAR,ANGPT1,ANXA1,ANXA2,RHOH,ATP6AP1,A XL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CAMK4,CASP3,CA SP8,RUNX2,RUNX1,CD2,CD5,CD28,CD86,TNFSF8, CDH17,CDK6,CDKN2B,CCR1,CCR7,KLF6,CR2,CSF1 ,CSF1R,CSF2,CTNNB1,CYLD,DOCK2,GPR183,EGR3, EPAS1,ETS1,PTK2B,FOXC1,FOS,GATA3,GFI1,IFNA 5,IFNG,RBP1,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL15,INHBA,INP P5D,ITGB1,ITK,LGALS9,LIF,MEF2C,MYB,NOTCH2 ,PIK3R1,PIP4K2A,PRKDC,PTGER4,RORA,SATB1,SF RP2,SLAMF1,SP3,SYK,TGFBR2,TGFBR3,KLF10,TNF SF4,TYRO3,XRCC5,ZBTB16,GPR68,ICOMES,TNFSF1 1,CDK13,RIPK2,TNFSF18,GPR55,CD83,HDAC9,FAR P2,TSPAN2,RASGRP1,TRIB1,MAEA,IKZF1,PLCL2,W DR7,RBPJOXC2,SSBP3,TBPARP,PTPN22,FOXP1,HIPK2, GPR171,TBX21,CLDN18,KLF13,RBM47,TET2,KMT2

15	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0016337 adesão célula-célula de organismo único	-12,5600356813 -9,584 1197705	9,85477,1145481,1157227,1468501,1492333,338339,387357	154,301,335,399,596,604,677,814,836,841 860,911,914,919,921,925,940,942,944,96 0,968,1021,1236,1499,1523,1540,1794,19 46,1956,1960,2244,2534,2625,2796,3037, 3077,3384,3442,3458,3479,3481,3557,355 9,3575,3592,3608,3688,3702,3965,4004,4 092,4478,4602,4815,4897,4907,5063,5260 ,5295,5591,5734,5912,5962,6095,6304,64 41,6504,6670,6850,6885,7048,7292,7301, 7356,7704,8320,8440,8600,8767,8995,923 1,9308,9369,9402,10049,10123,10507,105 63,11148,12862,23306,23607,26191,2699 9,27086,29119,29851,30009,34518,35243, 36940,57162,57829,64218,64581,79109,8 0762,84174,84959,91663,1145481,120423, 1468501,1492233,1518888,2532602,2557481,33 8339,387357	E2F4,F11,SEMA4A,NDFIP1,L3MBTL3,UBASH3B,STO N2,SCIN,NLRP3,RASGRP4,PIK3R6,IL23R,C1ECAD1T HEMIS
					ADRB2,ANXA1,APOA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1, CAMK4,CASP3,CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,C D5,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CD44,CD38,CDK6,CC R7,CTNNB1,CXADR,CYLD,DOCK2,EFNA5,EGFR,E GR3,FGB,FYN,GATA3,GNRH1,HAS2,HFE,ICAM2,IF NA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL1RN,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15, ITGB1,ITK,LGALS9,LMO1,SMAD7,MSN,MYB,NINJ2 ,NRCAM,NT5E,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PREDC,PTGE R4,RAP2B,RDX,ROBO4,SAT1,SFTPD,SLAMF1,SP3, SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,TYRO3,SCUBA1,Z BTB16,EOMES,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,DL GS,CD83,NRXN3,GRAP2,DNAJB6,RASGRP3,SEMA4 D,CXCL13,HHLA2,FMDC3A,PIP5K1C,CD2AP,PTPN2 2,CYFIP2,FOXP1,CTNNA3,ICOS,TBX21,APBB1IP,KI RREL,DUSP22,PELI1,ZP4,SEMA4A,CLEC7A,MAPK AP1,NDFIP1,SLA2,UBASH3B,MYADM,NLRP3,JAM L,PIK3R6,IL23R,RICTOR,NPNT,CLEC4D,THE MIS
16	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0048534 desenvolvimento de órgãos hematopoéticos ou linfoides	-12,2333602 -9,281 1237746	103,284,301,302,399,537,558,596,604,639 ,677,814,836,841,860,861,914,925,940,94 2,944,1015,1021,1030,1230,1236,1316,13 80,1435,1436,1437,1499,1540,1794,1880, 1960,2034,2113,2183,2290,2353,2625,267 2,3442,3458,3516,3559,3567,3575,3592,3 680,3624,3635,3668,3702,3720,3965,4057 ,4208,4602,4853,5295,5305,5591,5734,60 95,6304,6423,6504,6670,6850,7048,7049, 7071,7292,7301,7520,7704,8111,8320,860 0,8621,8767,8995,9290,9308,9734,9855,1 0018,10080,10123,10221,10296,10320,10 563,23228,23335,23343,23648,25976,261 91,27086,28996,29869,30009,91208,5162 1,54502,54790,55904,57623,64218,80362, 84456,84959,85439,85477,1145481,115727 ,1468501,1492233,1518339,387357	ADAR,ANGPT1,ANXA1,ANXA2,RHOH,ATP6AP1,A XL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CAMK4,CASP3,CA SP8,RUNX2,RUNX1,CD2,CD28,CD86,TNFSF8, CDH17,CDK6,CDKN2B,CCR1,CCR7,KLF6,CR2,CSF1 ,CSF1R,CSF2,CTNNB1,CYLD,DOCK2,GPR183,EGR3, EPAS1,ETS1,FTK2B,FOXC1,FOS,GATA3,GFI1,IFNA 5,IFNG,RBPJ,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL15,INHBA,INP P5D,ITGB1,ITK,JARID2,LGALS9,LTF,MEF2C,MYB, NOTCH2,PIK3R1,PIP4K2A,PRKDC,PTGER4,RORA,S ATB1,SFRP2,SLAMF1,SP3,SYK,TGFBR2,TGFBR3,K LF10,TNFSF4,TYRO3,XRCC5,ZBTB16,GPR68,EOME S,TNFSF11,CDK13,RIPK2,TNFSF18,GPR55,CD83,HD AC9,FAM72,BCL2L11,ISPAN2,RASGRP1,TRIB1,MA ELA,IKZF1,CXCL13,PLCL2,WDR7,RBFOX2,SSBP3,TI PARP,FTPN22,FOXP1,HIPK2,GPR171,TBX21,CLDN1 8,KLF13,RBM47,TET2,KMT2E,ZFAT,SEMA4A,NDFI P1,L3MBTL3,UBASH3B,STON2,SCIN,NLRP3,RASG RP4,PIK3R6,IL23R,CLEC4D,THEMIS
17	1_ Membro	-11,6340858809	301,399,596,604,677,814,860,914,925,940	ANXA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1,CAMK4,RUNX	

	GO Processos Biológicos GO:0030217 diferenciação de células T	-8,703 30/280	942,944,1021,1236,1499,1540,1794,1960, 2625,3458,3559,3575,3592,3600,3702,396 3,4002,4591,5734,6095,6304,6670,6850,7 048,7292,7704,8320,8767,8995,9308,1012 5,26191,27086,30009,64218,114548,1468 80,149233,338339,387357	2,CD2,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8,CDK6,CCR7,CTNN B1,CYLD,DOCK2,EGR3,GATA3,IFNG,IL2RA,IL7R,I L12A,IL15,ITK,LGALS9,MYB,PRKDC,PTGER4,ROR A,SATB1,SP3,SYK,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,EOME S,RIPK2,TNFSF18,CD83,RASGRP1,PTPN22,FOXP1,T BX21,SEMA4A,NLRP3,PIK3R6,IL23R,CLEC4D,THE MIS
18	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0002520 desenvolvimento do sistema imune	-11,3723535602 -8,469 126/793	103,284,301,302,399,537,558,596,604,639 ,677,814,836,841,860,861,914,925,940,94 2,944,1015,1021,1030,1230,1233,1236,13 16,1380,1435,1436,1437,1499,1540,1794, 1880,1960,2034,2113,2185,2296,2353,262 3,2672,3442,3458,3516,3559,3567,3575,3 592,3600,3624,3635,3688,3702,3720,3965 ,4057,4208,4602,4853,5295,5305,5501,57 34,6095,6304,6423,6504,6670,6850,7048, 7049,7071,7292,7301,7520,7704,8111,832 0,8600,8621,8767,8995,9260,9308,9734,9 855,10018,10100,10123,10221,10296,103 20,10563,23228,23239,23335,23543,2364 8,25976,26191,27086,28996,29851,29909, 30089,51308,51621,54502,54790,55904,5 7623,64218,80762,84456,84959,85439,85 477,114548,115727,146850,149233,338833 9,387357	ADAR,ANGPT1,ANXA1,ANXA2,RHOH,ATP6AP1,A XL,BCL2,BCL6,PRDM1,ZFP36L1,CAMK4,CASP3,CA SP8,RUNX2,RUNX1,CD2,CD8A,CD28,CD86,TNFSF8, CDH17,CDK6,CDKN2B,CCR1,CCR4,CCR7,KLF6,CR2 ,CSF1,CSF1R,CSF2,CTNNB1,CYLD,DOCK2,GPR183, EGR3,EPAS1,ETS1,FTK2B,FOXC1,FOS,GATA3,GPI1, IFNAS,IFNG,IRBP3,IL2RA,IL3,IL7R,IL12A,IL15,INHB A,INPP5D,ITGB1,ITK,JARID2,LGALS9,LTF,MEF2C, MYB,NOTCH2,PIK3R1,PIP4K2A,PRKDC,PTGER4,R ORA,SATB1,SP3,SYK,TGFBR2,TNFSF4,TYRO3,XRCC5,ZBTB16,GPR65,CD 83,HDAC9,FARP2,BCL2L11,TSPAN2,RASGRP1,TRI B1,MAGEA,IKZF1,CXCL13,PLCL2,PHLPP1,WDR7,RB FOX2,SSBP3,TIPARP,PTPN22,FOXP1,HIPK2,ICOS,G PR171,TBX21,CLDN18,KLF13,RBM47,TET2,KMT2E, ZFAT,SEMA4A,NDFIP1,L3MBTL3,UBASH3B,STON2 ,SCIN,NLRP3,RASGRP4,PIK3R6,IL23R,CLEC4D,THE MIS
19	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0051249 regulação da ativação de linfócitos	-10,57888902 -7,697 75/394	301,538,596,604,639,814,836,914,919,921 ,940,942,1236,1499,1540,1880,1960,2534, 2625,2796,3077,3458,3479,3481,3559,356 7,3575,3592,3596,3600,3624,3635,3965,4 004,4208,4602,4773,5063,5290,5295,6441 ,6504,6850,6885,7048,7292,7301,7356,77 04,8440,8600,8660,8767,8995,9308,9402, 10125,10453,111148,261911,398951,30089,5 6940,57162,57181,57829,64092,79169,80 762,84174,114548,146850,149233,151888 ,283200	ANXA1,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,CAMK4,CASP3,C D2,CD247,CD5,CD28,CD86,CCR7,CTNNB1,CYLD,GP R183,EGR3,FYN,GATA3,GNRHR,IFNG,IGF1,IG F2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INHBA,INPP5D, LGALS9,LMO7,MEF2C,MYB,NFATC2,PAK3,PIK3C A,PIK3R1,SFTPD,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,T NFSF4,TYRO3,SCOBEA1,ZBTB16,NCAC2,TNFSF11,IR S2,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,VAV3,H ELA2,PTPN22,ICOS,TBX21,DUSP22,PELI1,SLC39A1 0,ZP4,SAMSN1,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,NLRP3,PIK 3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
20	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0034110	-10,51956331 -7,659 63/305	154,301,604,814,836,914,919,921,940,942 ,960,1236,1499,1540,1960,2534,2625,2795 ,6303,3077,3458,3479,3481,3559,3575,3	ADRB2,ANXA1,BCL6,CAMK4,CASP3,CD2,CD247,C D5,CD28,CD86,CD44,CCR7,CTNNB1,CYLD,EGR3,F YN,GATA3,GNRHR,HAS2,HPE,IFNG,IGF1,IGF2,IL2R

	regulação da adesão célula-célula homotípica		592,3680,3963,4804,4602,5063,5296,5295 ,5942,6441,6504,6850,6885,7048,7292,73 56,7704,8440,8680,8767,8995,9308,9402, 10125,111148,26191,29851,56940,37162,3 7829,79109,80762,84959,114548,146850, 149233,151888,253260	A,IL7R,IL12A,IL15,LGALS9,LMO1,MYB,PAK3,PIK3 CA,PIK3R1,RDX,SFTPD,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGF BR2,TNFSF4,SCGB1A1,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,RIP K2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2,PTPN2 2,ICOS,DUSP22,PELI1,ZAP4,MAPKAP1,NDFIP1,EBAS H3B,NLRP3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
21	1_Membro GO Processos Biológicos GO:1902107 regulação positiva da diferenciação de leucócitos	-10,432911 8 -7,593 37/131	301,537,558,639,841,861,942,1230,1435,1 436,1960,2353,2625,3458,3559,3567,3575 ,3592,3680,3635,3965,4602,6850,7048,70 71,7292,7704,8111,8600,8767,9308,10125 ,10221,55904,114548,146850,149233	ANXA1,ATP6AP1,AXL,PRDM1,CASP8,RUNX1,CD86 ,CCR1,CSF1,CSF1R,EGR3,FOS,GATA3,IFNG,IL2RA,I L5,IL7R,IL12A,IL15,INPP5D,LGALS9,MYB,SYK,TGF BR2,KLF10,TNFSF4,ZBTB16,GPR68,TNFSF11,RIPK2 ,CD83,RASGRP1,TRIB1,KMT2E,NLRP3,PIK3R6,IL23 R
22	1_Membro GO Processos Biológicos GO:1902105 regulação da diferenciação de leucócitos	-10,145860798 -7,361 52/232	301,537,558,604,639,814,841,861,914,940 ,942,1230,1435,1436,1496,1540,1960,235 3,2625,3458,3559,3567,3575,3592,3680,3 624,3635,3965,4057,4602,5295,6850,7048 ,7071,7292,7704,8111,8600,8767,8995,92 90,9308,10125,10221,27086,51308,55904, 80762,84959,114548,146850,149233	ANXA1,ATP6AP1,AXL,BCL6,PRDM1,CAMK4,CASP 8,RUNX1,CD2,CD28,CD86,CCR1,CSF1,CSF1R,CTNN B1,CYLD,EGR3,FOS,GATA3,IFNG,IL2RA,IL5,IL7R,I L12A,IL15,INHBA,INPP5D,LGALS9,LTF,MYB,PIK3R 1,SYK,TGFBR2,KLF10,TNFSF4,ZBTB16,GPR68,TNF SF11,RIPK2,TNFSF18,GPR65,CD83,RASGRP1,TRIB1, FOXP1,CLDN18,KMT2E,NDFIP1,HBASH3B,NLRP3,P IK3R6,IL23R
23	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0045785 regulação positiva da adesão de células	-10,048103315 -7,281 71/373	384,391,535,910,921,940,942,960,1021,12 36,1435,1960,2185,2244,2335,2534,2625, 3037,3458,3479,3481,3559,3575,3592,360 0,3673,3688,3965,3987,4092,4602,4653,5 063,5290,5295,5734,5795,6239,6423,6504 ,6850,6885,7048,7292,7402,7424,7704,84 40,8609,8767,8995,9308,9402,10125,1045 1,10563,111148,25975,29851,54518,54566, 57829,79109,79625,91663,114548,146850 ,149233,151888,253260,255743	ANGPT1,ANXA1,APOA1,CD247,CD5,CD28,CD86,CD 44,CDK6,CCR7,CSF1,EGR3,PTK2B,FGR,FN1,FYN,G ATA3,HAS2,IFNG,ICF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15 ,ITGA2,ITGB1,LGALS9,LIMS1,SMAD7,MYB,MYOC, PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PTGER4,PTPRJ,RREB1,SFRP2 ,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,UTRN,VE GFC,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,CD83, GRAP2,RASGRP1,VAV3,CXCL13,HHLA2,EGFL6,IC OS,APBB1IP,EPB41L4B,ZP4,MAPKAP1,NDNF,MYA DM,NLRP3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,NPNT
24	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0002696 regulação positiva da ativação de leucócitos	-9,791000887 -3,040 61/302	301,558,596,604,639,914,919,921,943,942 ,1236,1880,1960,2534,2625,3458,3479,34 81,3559,3567,3575,3592,3596,3600,3635, 3965,4208,4602,4773,5063,5290,5295,650 4,6850,6885,7048,7292,7704,8440,8680,8 660,8767,9173,9308,9402,10125,10451,10 666,111148,29851,30009,57162,57181,578 29,79109,114548,124912,146850,149233, 151888,253260	ANXA1,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,CD2,CD247,CD5,C D28,CD86,CCR7,GPR183,EGR3,FYN,GATA3,IFNG,I GF1,IGF2,IL2RA,IL3,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,L GALS9,MEF2C,MYB,NFATC2,PAK3,PIK3CA,PIK3R1 ,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,N CK2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,IL1RL1,CD83,GRAP2,RAS GRP1,VAV3,CD226,HHLA2,ICOS,TBX21,PELI1,SLC 39A10,ZP4,MAPKAP1,NLRP3,SPACA3,PIK3R6,IL23 R,BTLA,RICTOR
25	1_Membro	-9,774174997	154,301,604,814,836,914,919,921,943,942	ADRB2,ANXA1,BCL6,CAMK4,CASP3,CD2,CD247,C

	GO Processos Biológicos GO:0034109 adesão célula-célula homotípica	-7,039 68/355	,900,1236,1499,1525,1540,1960,2244,253 4,2625,2796,3037,3077,3458,3479,3481,3 559,3575,3592,3680,3965,4804,4602,5063 ,5290,5295,5912,5962,6441,6564,6850,68 85,7048,7292,7301,7356,7704,8440,8660, 8767,8905,9308,9402,10125,11148,26191, 29119,29851,56940,57162,57829,79109,8 0762,84959,114548,146850,149233,151888 8,253260	D3,CD28,CD86,CD4,CCR7,CTNNB1,CXADR,CYLD, EGR3,FGB,FYN,GATA3,GNRH1,HAS2,HFE,IFNG,IG F1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,LGALS9,MO1,MY B,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,RAP2B,RDX,SFTPD,SLAM F1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,TYRO3,SCGB1A 1,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GR AP2,RASGRP1,HHLA2,PTPN22,CTNNA3,ICOS,DUSP 22,PELI1,ZP4,MAPKAP1,NDFIP1,UBASH3B,NLRP3, PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
26	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:1903037 regulação positiva da hematopoiese	-9,730366077 37 -7,030 43/163	301,537,538,6039,841,861,942,1230,1435,1 436,1960,2113,2296,2353,2625,3458,3559 ,3567,3575,3592,3680,3624,3635,3965,46 02,6850,7048,7071,7292,7704,8111,8660, 8767,9308,10125,10221,53004,85477,114 548,146850,149233	ANXA1,ATP6AP1,AXL,PRDM1,CASP8,RUNX1,CD86 ,CCR1,CSF1,CSF1R,EGR3,ETS1,FOXC1,FOS,GATA3, IFNG,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL15,INHBA,INPP5D,L GALS9,MYB,SYK,TGFBR2,KLF10,TNFSF4,ZBTB16, GPR68,TNFSF11,RIPK2,CD83,RASGRP1,TRIB1,KMT 2E,SCIN,NLRP3,PIK3R6,IL23R
27	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002694 regulação da ativação de leucócitos	-9,718261926 -7,013 80/450	301,558,596,604,639,814,836,914,919,921 ,940,942,1236,1499,1540,1880,1960,2574, 2625,2796,3077,3458,3479,3481,3559,356 7,3575,3592,3596,3600,3624,3635,3965,4 004,4208,4602,4773,5063,5290,5295,5791 ,6095,6441,6504,6850,6885,7048,7292,73 01,7356,7704,8440,8600,8660,8767,8995, 9173,9308,9402,10125,10451,10666,11114 8,26191,29851,30009,56940,57162,57181, 57829,64092,79109,80762,84174,114548, 124912,146850,149233,151888,253260	ANXA1,AXL,BCL2,BCL6,CASP3,CD2,CD4,CD5,CD8 A,CD86,CD247,CD5,CD28,CD86,CCR7,CTNNB1,CYLD,GP R183,EGR3,FYN,GATA3,GNRH1,HFE,IFNG,IGF1,IG F2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INHBA,INPP5D, LGALS9,MEFV,MYB,NFATC2,PAK3,PIK3C A,PIK3R1,PTPRE,RORA,SFTPD,SLAMF1,SYK,MAP3 K7,TGFBR2,TNFSF4,TYRO3,SCGB1A1,ZBTB16,NCK 2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,TNFSF18,IL1RL1,CD83,GRA P2,RASGRP1,VAV3,CD226,HHLA2,PTPN22,ICOS,TB X21,DUSP22,PELI1,SLC39A10,ZP4,SAMSN1,MAPKA P1,NDFIP1,SLA2,NLRP3,SPACA3,PIK3R6,IL23R,BTL A,RICTOR
28	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:1903037 regulação da adesão célula-célula de leucócitos	-9,584372588 -6,893 60/298	301,604,814,836,914,919,921,940,942,960 ,1236,1499,1540,1960,2534,2625,2796,30 37,3077,3458,3479,3481,3559,3575,3592, 3600,3965,4004,4602,5063,5290,5295,6044 1,6504,6850,6885,7048,7292,7356,7704,8 440,8600,8767,8995,9308,9402,10125,111 48,26191,29851,56940,57162,57829,79109 9,80762,114548,146850,149233,151888,2 53260	ANXA1,BCL6,CAMK4,CASP3,CD2,CD247,CD5,CD28 ,CD86,CD44,CCR7,CTNNB1,CYLD,EGR3,FYN,GATA 3,GNRH1,HAS2,HFE,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL 12A,IL15,LGALS9A,MO1,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R 1,SFTPD,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,S CGB1A1,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,C D83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2,PTPN22,ICOS,DUSP2 2,PELI1,ZP4,MAPKAP1,NDFIP1,NLRP3,PIK3R6,IL23 R,BTLA,RICTOR
29	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0022407 regulação da adesão	-9,421583664 -6,788 70/377	154,301,335,604,814,836,914,919,921,940 ,942,960,1236,1499,1540,1946,1960,2244, 2534,2625,2796,3037,3077,3458,3479,348 1,3557,3559,3575,3592,3600,3965,4004,4	ADRB2,ANXA1,APOA1,BCL6,CAMK4,CASP3,CD2,C D247,CD5,CD28,CD86,CD44,CCR7,CTNNB1,CYLD,E FNA5,EGR3,FGB,FYN,GATA3,GNRH1,HAS2,HFE,IF NG,IGF1,IGF2,IL2RN,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,LGAL

	célula-célula		092,4602,5063,5290,5295,5962,6441,6504,6868,6885,7048,7292,7356,7704,8440,8660,8767,8995,9308,9402,10125,10563,11148,26191,29831,36940,57162,57829,79109,80762,84959,91663,114548,146850,149233,151888,253260	SYL,MO1,SMAD7,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,RDX,SFTPD,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,SCCB1A1,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,CXCL13,HHLA2,PTPN22,ICOS,DUSP22,PELI1,ZP4,MAPKAP1,NDFIP1,LBASH3B,MYADM,NLRP3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RECTOR
30	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0050863 regulação da ativação de células T	-9,413406447 -6,788 58/286	301,604,814,836,914,919,921,940,942,123,6,1499,1540,1960,2534,2625,2796,3077,3458,3479,3481,3559,3575,3592,3606,3680,3865,4004,4602,5063,5290,5295,6441,6504,6868,8767,8995,9308,9402,10125,11148,26191,29831,36940,57162,57829,79109,80762,146548,146850,149233,151888,253260	ANXA1,BCL6,CAMK4,CASP3,CD2,CD247,CD5,CD28,CD86,CCR7,CTNNB1,CY1D,EGR3,FYN,GATA3,GNRH1,HPE,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL13,IL15,GALS9,LMO1,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,SFTPD,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,SCCB1A1,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2,PTPN22,ICOS,DUSP22,PELI1,ZP4,MAPKAP1,NDFIP1,NLRP3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
31	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0051251 regulação positiva da ativação de linfócitos	-9,390588338 -6,788 57/279	301,558,596,604,639,919,921,940,942,123,6,1880,1960,2534,2625,3458,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596,3606,3680,3635,3965,4208,4602,4773,5063,5290,5295,6504,6868,8767,9308,9402,10125,10451,11148,29831,36940,57162,57181,57829,79109,81454,84650,149233,151888,253260	ANXA1,AXL,BCL2,BCL6,CD86,CCR7,GPR183,EGR3,FYN,GATA3,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,MEF2C,MYB,NFATC2,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,IL2RG,CD83,GRAP2,RASGRP1,VAV3,CD226,HHLA2,ICOS,TBX21,PELI1,SLC39A10,ZP4,MAPKAP1,NLRP3,SPAC5,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
32	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0050867 regulação positiva da ativação celular	-9,315011767 -6,730 63/310	301,558,596,604,639,914,919,921,940,942,1236,1880,1960,2534,2625,3458,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596,3606,3635,3965,4208,4602,4773,5063,5290,5295,6504,6868,8767,9173,9308,9402,10125,10451,11148,29831,36940,57162,57181,57829,79109,81454,84650,149233,151888,253260	ANXA1,AXL,BCL2,BCL6,CD86,CCR7,GPR183,EGR3,FYN,GATA3,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,MEF2C,MYB,NFATC2,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,IL2RG,CD83,GRAP2,RASGRP1,VAV3,CD226,HHLA2,ICOS,TBX21,PELI1,SLC39A10,ZP4,MAPKAP1,NLRP3,SPAC5,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
33	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0050865 regulação da ativação celular	-9,310078153 -6,730 83/483	154,301,558,596,604,639,814,836,914,919,921,940,942,1236,1490,1540,1880,1960,2534,2625,2796,3077,3458,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596,3606,3624,3635,3965,4004,4208,4602,4773,5063,5290,5295,5791,6095,6441,6504,6850,6885,7048,7292,7356,7704,8440,8660,8767,8995,9173,9308,9402,10125,10451,10	ADRB2,ANXA1,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,CAMK4,CASP3,CD2,CD247,CD5,CD28,CD86,CCR7,CTNNB1,CYLD,GPR183,EGR3,FYN,GATA3,GNRH1,HPE,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,LGALS9,LMO1,MEF2C,MYB,NFATC2,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PTPRE,RORA,SFTPD,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,TAK,TYRO3,SCCB1A1,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,TNFSF18,IL1RL1

			666,11148,26191,29851,30009,36940,571	CD83,GRAP2,RASGRP1,VAV3,CD226,HHLA2,PTPN	
			62,57181,57829,64092,79109,80762,8417	22,ICOS,TBX21,DUSP22,PELI1,SLC39A10,ZP4,SAMS	
			4,84959,114548,124912,146850,149233,1	N1,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,UBASH3B,NLRP3,SPA	
			51888,253260	CA3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR	
34	1_Membro	-9,0860346638	301,537,558,604,639,814,841,861,914,940	ANXA1,ATP6AP1,AXL,BCL6,PRDM1,CAMK4,CASP	
	GO Processos Biológicos	-6,327	,942,1021,1230,1435,1436,1499,1540,196	8,RUNX1,CD2,CD28,CD86,CCR1,CSF1,CSF1R,	
	GO:1903706	61/314	0,2113,2185,2296,2353,2623,3458,3559,3	CTNNB1,CYLD,EGR3,ETS1,PTK2B,FOXC1,FOS,GA	
	regulação da hematopoese		567,3575,3592,3601,3624,3635,3965,40057	TA3,IFNG,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL15,INHBA,INPP5	
			,4308,4602,5295,6850,7048,7071,7292,77	D1,GALS9,LTF,MEF2C,MYB,PIK3R1,SYK,TGFBR2,	
			04,81111,86001,8767,8995,9290,9308,10125	KLF10,TNFSF4,ZBTB16,GPR65,TNFSF11,RIPK2,TNF	
			,10221,23543,27086,29909,51208,51621,5	SF18,GPR55,CD83,RASGRP1,TRIB1,RBFOX2,FOXP1	
			5904,80762,84959,85477,114548,146850,	,GPR171,CLDN18,KLF13,KMT2E,NDFIP1,UBASH3B,	
			149233	SCIN,NLRP3,PIK3R6,IL23R	
35	1_Membro	-8,801686831	154,301,335,399,596,604,677,814,836,841	ADRB2,ANXA1,APOA1,RHOH,BCL2,BCL6,ZFP36L1,	
	GO Processos Biológicos	-6,282	,860,911,914,919,921,925,940,942,944,96	CAMK4,CASP3,CASP8,RUNX2,CD1C,CD2,CD247,C	
	GO:0098609	127/876	0,965,1015,1021,1236,1499,1525,1540,17	D5,CD8A,CD28,CD38,CD86,TNFSF8,CD44,CD58,CDH17,C	
	adesão célula-célula		94,1946,1956,1960,2244,2534,2625,2796,	DK6,CCR7,CTNNB1,CXADR,CYLD,DOCK2,EFNA5,	
			3037,3077,3384,3442,3458,3479,3481,355	EGFR,EGR3,FGB,FYN,GATA1,GNRH1,HAS2,HPE,IC	
			7,3559,3575,3592,3600,3688,3702,3965,4	AM2,IFNAS,IFNG,IGF1,IGF2,IL1RN,IL2RA,IL7R,IL1	
			014,4092,4478,4602,4815,4897,4907,5063	2A,IL15,ITGB1,ITK,LGALS9A,MO1,SMAD7,MSN,M	
			,5290,5295,5591,5734,5789,5793,5912,59	YB,NIN2,NRCAM,NTSE,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRK	
			62,6093,6304,6441,6504,6670,6850,6885,	DC,PTGER4,PTPRD,PTPRG,RAP2B,RDX,RORA,SAT	
			7048,7292,7301,7356,7704,8320,8440,860	B1,SFTPD,SLAMF1,SP3,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNF	
			0,8767,8995,9076,9231,9308,9369,9402,1	SF4,TYRO3,SCGB1A1,ZBTB16,EOMES,NCK2,TNFS	
			0049,10125,10507,10563,10666,11148,22	F11,RIPK2,TNFSF18,CLDN1,BLG5,CD83,NRXN3,GR	
			862,23396,23607,26191,26999,27086,291	AP2,DNAJB6,RASGRP1,SEMA4D,CXCL13,CD226,H	
			19,29851,30009,51208,54318,55243,5571	HLA2,FNDC3A,PIP5K1C,CD2AP,PTPN22,CYTIP2,FO	
			4,56940,57162,57829,60437,64218,64381,	XP1,CTNNA3,ICOS,TBX21,CLDN18,APBB1IP,KIRR	
			79109,80762,84174,84959,91663,114548,	EL1,TENM3,DUSP22,PELI1,ZP4,CDH26,SEMA4A,CLE	
			120425,146850,149233,151888,253260,25	C7A,MAPKAP1,NDFIP1,SLA2,UBASH3B,MYADM,N	
			5743,338339,387357	LRP3,JAML,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR,NPNT,CL	
				EC4D,THEMIS	
36	1_Membro	-7,878425097	301,919,921,940,942,960,1236,1960,2534,	ANXA1,CD247,CD5,CD28,CD86,CD44,CCR7,EGR3,F	
	GO Processos Biológicos	-5,468	2625,3037,3458,3479,3481,3559,3575,359	YN,GATA3,HAS2,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12	
	GO:0034112	44/208	2,3600,3965,4602,5063,5290,5295,65804,6	A,IL15,LGALS9,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,SLAMF	
	regulação positiva da		850,6885,7048,7292,7704,8440,86001,87767	1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,NCK2,TN	
	adesão célula-célula		,9308,9402,10125,111148,29851,57829,791	FSF11,RIPK2,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2,ICOS,	
	homotípica		09,114548,146850,149233,151888,253260	ZP4,MAPKAP1,NLRP3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR	
37	1_Membro	-7,722082654	301,596,604,639,836,940,942,1435,1499,1	ANXA1,BCL2,BCL6,PRDM1,CASP3,CD28,CD86,CSF	
	GO Processos Biológicos	-5,339	880,2796,3458,3479,3481,3559,3567,3592	1,CTNNB1,GPR183,GNRH1,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,I	

	GO:0032944 regulação da proliferação de células mononucleares	42/196	3596,3600,3635,3965,4004,4208,4773,64 41,6480,6504,6850,7292,7356,8440,8660, 8767,8995,10451,11148,26191,57162,571 81,57829,80762,149233	L5,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,LMO1,MEF2C, NFATC2,SPTPD,ST6GAL1,SLAMF1,SYK,TNFSF4,SC GB1A1,NCK2,IRS2,RIPK2,TNFSF18,VAV3,HHLA2,P TPN22,PELI1,SLC39A10,ZP4,NDFIP1,IL23R
38	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:1903039 regulação positiva da adesão célula-célula de leucócitos	-7,682342801 5 -5,306 44/211	301,919,921,940,942,960,1236,1960,2534, 2625,3037,3458,3479,3481,3559,3575,3592 2,3600,3965,4002,5063,5290,5295,6504,6 850,6885,7048,7292,7704,8440,8660,8767 ,9308,9402,10125,11148,20851,57829,791 09,114548,146850,149233,151888,253260	ANXA1,CD247,CD5,CD28,CD86,CD44,CCR7,EGR3,F YN,GATA3,HAS2,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12 A,IL15,LGALS9,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,SLAMF 1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,NCK2,TN FSF11,RIPK2,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2,ICOS, ZP4,MAPKAP1,NLRP3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
39	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0045621 regulação positiva da diferenciação de linfócitos	-7,364479787 -5,291 24/80	301,558,639,942,1960,2625,3458,3559,35 75,3592,3600,3635,3965,4602,6850,7048, 7292,7704,8767,9308,10125,114548,1468 50,149233	ANXA1,AXL,BCL6,PRDM1,CD86,EGR3,GATA3,IFNG,IL2R A,IL7R,IL12A,IL15,INPP5D,LGALS9,MYB,SYK,TGF BR2,TNFSF4,ZBTB16,RIPK2,CD83,RASGRP1,NLRP3 ,PIK3R6,IL23R
40	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0045619 regulação da diferenciação de linfócitos	-7,351281213 -5,019 32/132	301,538,604,639,814,914,940,942,1540,19 60,2625,3458,3559,3575,3592,3600,3624, 3633,3965,4602,6850,7048,7292,7704,876 7,8995,9308,10125,80762,114548,146850, 149233	ANXA1,AXL,BCL6,PRDM1,CAMK4,CD2,CD28,CD86 ,CYLD,EGR3,GATA3,IFNG,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,I NHBA,INPP5D,LGALS9,MYB,SYK,TGFBR2,TNFSF4, ZBTB16,RIPK2,TNFSF18,CD83,RASGRP1,NDFIP1,N LRP3,PIK3R6,IL23R
41	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0022409 regulação positiva da adesão célula-célula	-7,210479046 -4,897 47/241	301,919,921,940,942,960,1236,1960,2244, 2534,2625,3037,3458,3479,3481,3559,357 5,3592,3600,3965,4002,4602,5063,5290,5 295,6504,6850,6885,7048,7292,7704,8440 ,8600,8767,9308,9402,10125,10563,11148 ,29851,57829,79109,114548,146850,1492 33,151888,253260	ANXA1,CD247,CD5,CD28,CD86,CD44,CCR7,EGR3,F GB,FYN,GATA3,HAS2,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R, IL12A,IL15,LGALS9,SMAD7,MYB,PAK3,PIK3CA,PI K3R1,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TNFSF4,ZBT B16,NCK2,TNFSF11,RIPK2,CD83,GRAP2,RASGRP1, CXCL13,HHLA2,ICOS,ZP4,MAPKAP1,NLRP3,PIK3R 6,IL23R,BTLA,RICTOR
42	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0050870 regulação positiva da ativação de células T	-7,199237814 -4,892 42/204	301,919,921,940,942,1236,1960,2534,262 5,3458,3479,3481,3559,3575,3592,3600,3 965,4602,5063,5290,5295,6504,6850,6885 ,7048,7292,7704,8440,8660,8767,9308,94 02,10125,11148,29851,57829,79109,1145 48,146850,149233,151888,253260	ANXA1,CD247,CD5,CD28,CD86,CCR7,EGR3,FYN,G ATA3,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,LGA LS9,MYB,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,SLAMF1,SYK,MAP 3K7,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,NCK2,TNFSF11,RIPK 2,CD83,GRAP2,RASGRP1,HHLA2,ICOS,ZP4,MAPKA P1,NLRP3,PIK3R6,IL23R,BTLA,RICTOR
43	1_ Membro GO Processos Biológicos GO:0070663 regulação da proliferação de leucócitos	-7,136431133 -4,848 42/205	301,596,604,639,836,940,942,1435,1499,1 880,2796,3458,3479,3481,3559,3567,3592 ,3596,3600,3635,3965,4004,4208,4773,64 41,6480,6504,6850,7292,7356,8440,8660, 8767,8995,10451,11148,26191,57162,571 81,57829,80762,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,PRDM1,CASP3,CD28,CD86,CSF 1,CTNNB1,GPR183,GNRH1,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,I L5,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,LMO1,MEF2C, NFATC2,SPTPD,ST6GAL1,SLAMF1,SYK,TNFSF4,SC GB1A1,NCK2,IRS2,RIPK2,TNFSF18,VAV3,HHLA2,P TPN22,PELI1,SLC39A10,ZP4,NDFIP1,IL23R

44	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0032946 regulação positiva da proliferação de células mononucleares	-7,0496064324 -4,776 31/129	301,596,604,940,942,1435,1880,3458,3479,3481,3559,3567,3592,3596,3600,3965,4208,4773,6480,6504,6850,7292,8440,8660,8767,10451,11148,57162,57181,57829,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,CD28,CD86,CSF1,GPR183,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL12A,IL13,IL15,GALS9,MEF2C,NFATC2,ST6GAL1,SLAMF1,SYK,TNFSF4,NCK2,IRS2,RIPK2,VAV3,HHLA2,PELI1,SLC39A10,ZP4,IL23R
45	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0032943 proliferação de células mononucleares	-7,0035186018 -4,735 40/260	301,596,604,639,836,940,942,1380,1435,1499,1794,1880,2534,2796,3442,3458,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596,3600,3635,3965,4004,4208,4773,6304,6441,6480,6504,6850,7292,7356,8440,8660,8767,8995,10451,11148,23228,26191,57162,57181,57829,80762,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,PRDM1,CASP3,CD28,CD86,CR2,CSF1,CTNNB1,DOCK2,GPR183,FYN,GNRH1,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,LMO1,MEF2C,NFATC2,SATB1,SFTPD,ST6GAL1,SLAMF1,SYK,TNFSF4,SCGB1A1,NCK2,IRS2,RIPK2,TNFSF18,VAV3,HHLA2,PTPN22,PELI1,SLC39A10,ZP4,NDFIP1,IL23R
46	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0050670 regulação da proliferação de linfócitos	-6,9072212209 -4,649 40/194	301,596,604,639,836,940,942,1499,1880,2796,3458,3479,3481,3559,3567,3592,3596,3600,3635,3965,4004,4208,4773,6441,6504,6850,7292,7356,8440,8660,8767,8995,10451,11148,26191,57162,57181,57829,80762,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,PRDM1,CASP3,CD28,CD86,CTNNB1,GPR183,GNRH1,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,LMO1,MEF2C,NFATC2,SFTPD,SLAMF1,SYK,TNFSF4,SCGB1A1,NCK2,IRS2,RIPK2,TNFSF18,VAV3,HHLA2,PTPN22,PELI1,SLC39A10,ZP4,NDFIP1,IL23R
47	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0045380 regulação da diferenciação de células T	-6,6861991889 -4,467 27/107	301,604,814,914,940,942,1540,1960,2625,3458,3559,3575,3592,3600,3965,4602,6853,7048,7292,7704,8767,8995,9308,10125,114548,146850,149233	ANXA1,BCL6,CAMK4,CD2,CD28,CD86,CYLD,EGR3,GATA3,IFNG,IL2RA,IL7R,IL12A,IL15,LGALS9,MYB,SYK,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,RIPK2,TNFSF18,CD38,RASGRP1,NLRP3,PIK3R6,IL23R
48	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0070661 proliferação de leucócitos	-6,6797004772 -4,466 50/274	301,596,604,639,836,940,942,1380,1435,1499,1794,1880,2534,2796,3442,3458,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596,3600,3635,3965,4004,4208,4773,6304,6441,6480,6504,6850,7292,7356,8440,8660,8660,8767,8995,10451,11148,23228,26191,57162,57181,57829,80762,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,PRDM1,CASP3,CD28,CD86,CR2,CSF1,CTNNB1,DOCK2,GPR183,FYN,GNRH1,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,LMO1,MEF2C,NFATC2,SATB1,SFTPD,ST6GAL1,SLAMF1,SYK,TNFSF4,SCGB1A1,NCK2,TNFSF11,IRS2,RIPK2,TNFSF18,VAV3,HHLA2,PTPN22,PELI1,SLC39A10,ZP4,NDFIP1,IL23R
49	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0070665 regulação positiva da proliferação de leucócitos	-6,5741387762 -4,383 31/135	301,596,604,940,942,1435,1880,3458,3479,3481,3559,3567,3592,3596,3600,3965,4208,4773,6480,6504,6850,7292,8440,8660,8767,10451,11148,57162,57181,57829,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,CD28,CD86,CSF1,GPR183,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL12A,IL13,IL15,GALS9,MEF2C,NFATC2,ST6GAL1,SLAMF1,SYK,TNFSF4,NCK2,IRS2,RIPK2,VAV3,HHLA2,PELI1,SLC39A10,ZP4,IL23R
50	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0046651 proliferação de linfócitos	-6,3480188927 -4,186 47/257	301,596,604,639,836,940,942,1380,1499,1794,1880,2534,2796,3442,3458,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596,3600,3635,3965,4004,4208,4773,6304,6441,6504,6850,6853,7048,7292,7704,8767,8995,9308,10125,114548,146850,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,PRDM1,CASP3,CD28,CD86,CR2,CTNNB1,DOCK2,GPR183,FYN,GNRH1,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,LGALS9,LMO1,MEF2C,NFATC2,SATB1,SFTPD,SLA

			7292,7356,8440,8660,8767,8995,10451,11148,23228,26191,57162,57181,57829,80762,149233	MF1,SYK,TNFSF4,SCGB1A1,NCK2,IRS2,RIPK2,TNFSF18,VAV3,HHLA2,PLCL2,PTPN22,PELI1,SLC39A10,ZP4,NDFIP1,IL23R	
31	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0043382 regulação positiva da diferenciação de células T	-6,258197119 -4,117 30668	301,942,19601,2625,3458,3539,3575,3592,3965,4602,6850,7048,7292,7704,8767,930,8,10125,11148,1468,50,149233	ANXA1,CD86,EGR3,GATA3,IFNG,IL2RA,IL7R,IL12A,IL6AL89,MYB,SYK,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,RIPK2,CD83,RASGRP1,NLRP3,PIK3R6,IL23R	
32	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0051671 regulação positiva da proliferação de linfócitos	-6,139566699 -4,040 30127	301,596,604,940,942,1880,3458,3479,3481,3559,3567,3592,3596,3600,3965,4208,4773,6504,6850,7292,8440,8660,8767,10451,11148,57162,57181,57829,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,CD28,CD86,GPR183,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL12A,IL13,IL15,LGALS9,MEF2C,NFATC2,SLAMF1,SYK,TNFSF4,NCK2,IRS2,RIPK2,VAV3,HHLA2,PELI1,SLC39A10,ZP4,IL23R	
33	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0042129 regulação da proliferação de células T	-4,010083497 -2,291 27146	301,836,940,942,1499,2796,3438,3479,3481,3559,3592,3680,3965,4004,6441,6504,6850,7292,7356,8440,8767,8995,11148,57162,57829,80762,149233	ANXA1,CASP3,CD28,CD86,CTNNB1,GNRH1,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL12A,IL15,LGALS9,LMO1,SFTPD,SLAMF1,SYK,TNFSF4,SCGB1A1,NCK2,RIPK2,TNFSF18,HHLA2,PELI1,ZP4,NDFIP1,IL23R	
34	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0043088 proliferação de células T	-3,856028459 -2,156 30173	301,836,940,942,1499,1794,2534,2796,3458,3479,3481,3559,3592,3600,3965,4004,6304,6441,6504,6850,7292,7356,8440,8767,8995,11148,57162,57829,80762,149233	ANXA1,CASP3,CD28,CD86,CTNNB1,DOCK2,FYN,GNRH1,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL12A,IL13,LGALS9,LMO1,SATB1,SFTPD,SLAMF1,SYK,TNFSF4,SCGB1A1,NCK2,RIPK2,TNFSF18,HHLA2,PELI1,ZP4,NDFIP1,IL23R	
35	1_Membro GO Processos Biológicos GO:0042102 regulação positiva da proliferação de células T	-3,050428025 -1,535 18494	301,940,942,3458,3479,3481,3559,3592,3600,3965,6504,6850,7292,8440,8767,11148,57829,149233	ANXA1,CD28,CD86,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL12A,IL15,LGALS9,SLAMF1,SYK,TNFSF4,NCK2,RIPK2,HHLA2,ZP4,IL23R	
36	2_Resumo GO Processos Biológicos GO:0002684 regulação positiva do processo do sistema imune	-14,18374272 -10,642 152/943	301,329,330,337,538,596,684,839,841,861,914,919,921,940,942,1230,1235,1236,1246,1,0,13778,13801,1435,1436,1540,16093,1846,1,848,1880,1907,1960,2113,2185,2209,2296,2353,2534,2625,2673,3093,3320,3384,34,58,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596,3600,3624,3635,3673,3702,3708,3709,3778,3,3937,3965,4037,4060,4208,4214,4313,4,602,4772,4773,4790,5054,5063,5142,5144,5289,5290,5295,5367,5579,5591,5641,57,07,5716,5728,5734,5795,6197,6504,6850,6885,7048,7071,7097,7292,7294,7301,742	ANXA1,BIRC2,BIRC3,ATP6AP1,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,CASP8,RUNX1,CD2,CD247,CD5,CD28,CD86,CCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CR1,CR2,CSF1R,CYLD,COCH,DUSP4,DUSP6,GPR183,EDN2,EGR3,ETS1,PTK2B,FCGR1A,FOXC1,FOS,FYN,GATA3,GFI1,UBE2K,HSP90AA1,ICAM2,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,ITGA2,ITK,ITPR1,ITPR2,KCNN4,LCP2,LGALS9,LTF,SH2D1A,MEF2C,MAP3K1,MMP2,MYB,NFATC1,NFATC2,NFKB1,SERPINE1,PAK3,PDE4B,PDE4D,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PRKACB,PRKCB,PKKDC,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTGER4,PTPRJ,RPS6KA3,SLAMF1,SYK,MAP3	

			4,7456,7704,8111,8440,8660,8660,8767,8 995,9173,9308,9402,9447,9844,10010,101 25,10213,10221,10333,10451,10563,1066 6,11148,23118,23228,23291,23369,23457, 26191,26999,29851,30099,30849,50852,5 4106,55904,56940,57162,57181,57590,57 829,64581,79109,79931,84174,85477,114 548,118788,124912,146850,149233,15188 8,153090,253260,338339,340061,375056, 387357,2847,817,1437,1839,1847,1958,224 6,2549,3563,3568,3716,4140,5921,5922,6 711,8452,23239,25780,115727,152589,10 3,154,308,335,347,834,1794,2040,2693,26 97,3442,3554,4142,4907,5321,5654,5740, 5770,6095,6346,6772,6846,7004,7356,855 4,8651,9353,9469,9982,11221,27086,2734 7,51606,55090,60386,80762	K7,TGFBR2,KLF10,TLR2,TNFSF4,TXK,TYRO3,VEG FC,WIPF1,ZBTB16,GPR68,NCK2,TNFSF11,IRS2,RIP K2,TNFSF18,IL1RL1,CD83,GRAP2,AIM2,ELMO1,TA NK,RASGRP1,PSMD14,TRIB ,TLR6,VAV3,CXCL13, CD226,HHLA2,TAB2,PLCL2,FBXW11,PUM2,ABCB9, PTPN22,CYFIP2,ICOS,TBX21,PIK3R4,TRAT1,TLR9, KMT2E,DUSP22,PELI1,SLC39A10,WDFY3,ZP4,CLE C7A,MAPKAP1,TNIP3,SLA2,SCIN,NLRP3,PIK3AP1,S PACA3,PIK3R6,IL23R,BTLA,DAB2IP,RICTOR,CLEC 4D,TMEM173,MIA3,THEMIS,ANGPT1,CAMK2D,CS F2,HBEGF,DUSP5,EGFR,FGF1,GAB1,IL3RA,IL5RA,J AK1,MARK3,RASA1,RASA2,SPTBN1,CUL3,PHLPP1, RASGRP3,RASGRP4,PAQR3,ADAR,ADRB2,ANXA5, APOA1,APOD,CASP1,DOCK2,STOM,GHSR,GBA1,IF NA5,IL18,MAS1,NT5E,PLA2G4A,HTRA1,PTGIS,PT PN1,RORA,CCL1,STAT1,XCL2,TEAD4,SCGB1A1,PI AS1,SOCS1,SLIT2,CHST3,FGFBP1,DUSP10,FOXP1,S TK39,ATP6V1H,PACS1,SLC25A19,NDFIP1
57	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002684 regulação positiva do processo do sistema imune	-14,18374272 -10,642 152943	301,329,330,537,558,596,604,639,841,861 ,914,919,921,940,942,1230,1235,1236,124 0,1378,1380,1435,1436,1540,1690,1846,1 848,1880,1907,1960,2113,2185,2209,2296 ,2353,2534,2625,2672,3093,3320,3384,34 58,3479,3481,3559,3567,3575,3592,3596, 3600,3624,3635,3673,3702,3708,3709,378 3,3937,3965,4057,4068,4208,4214,4313,4 602,4772,4779,4790,5054,5063,5142,5144 ,5289,5290,5295,5367,5579,5591,5641,57 07,5716,5728,5734,5795,6197,6504,6850, 6865,7048,7071,7097,7282,7294,7301,742 4,7456,7704,8111,8440,8660,8660,8767,8 995,9173,9308,9402,9447,9844,10010,101 25,10213,10221,10333,10451,10563,1066 6,11148,23118,23228,23291,23369,23457, 26191,26999,29851,30099,30849,50852,5 4106,55904,56940,57162,57181,57590,57 829,64581,79109,79931,84174,85477,114 548,118788,124912,146850,149233,15188 8,153090,253260,338339,340061,375056, 387357	ANXA1,BIRC2,BIRC3,ATP6AP1,AXL,BCL2,BCL6,PR DM1,CASP8,RELN,X1,CD2,CD247,CD5,CD28,CD86,C CR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CR1,CR2,CSF1,CSF1R,CY LD,COCH,DUSP4,DUSP6,GPR183,EDN2,EGR3,ETS1, PTK2B,FCGR3A,FOXC1,FOS,FYN,GATA3,GFI1,UBE 2K,HSP90AA1,ICAM2,IFNG,IGF1,IGF2,IL2RA,IL5,IL 7R,IL12A,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,ITGA2,ITK,ITPR 1,ITPR2,KCNN4,LCP2,LGALS9,LTF,SH2D1A,MEF2C ,MAP3K1,MMP2,MYB,NFATC1,NFATC2,NFKB1,SE RPINE1,PAK3,PDE4B,PDE4D,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R 1,PRKACB,PRKCB,PRKDC,LGMN,PSMD1,PSMD10, PTEN,PTGER4,PTPRJ,RPS6KA3,SLAMF1,SYK,MAP3 K7,TGFBR2,KLF10,TLR2,TNFSF4,TXK,TYRO3,VEG FC,WIPF1,ZBTB16,GPR68,NCK2,TNFSF11,IRS2,RIP K2,TNFSF18,IL1RL1,CD83,GRAP2,AIM2,ELMO1,TA NK,RASGRP1,PSMD14,TRIB ,TLR6,VAV3,CXCL13, CD226,HHLA2,TAB2,PLCL2,FBXW11,PUM2,ABCB9, PTPN22,CYFIP2,ICOS,TBX21,PIK3R4,TRAT1,TLR9, KMT2E,DUSP22,PELI1,SLC39A10,WDFY3,ZP4,CLE C7A,MAPKAP1,TNIP3,SLA2,SCIN,NLRP3,PIK3AP1,S PACA3,PIK3R6,IL23R,BTLA,DAB2IP,RICTOR,CLEC 4D,TMEM173,MIA3,THEMIS

58	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002764 via de sinalização da regulação da resposta imune	-10,1543911 -7,361 108,8671	284,329,330,396,817,841,919,940,942,123 6,1378,1380,1437,1540,1839,1846,1847,1 848,1956,2209,2246,2353,2534,2549,2625 ,2672,3320,3384,3458,3559,3563,3567,35 68,3635,3702,3708,3709,3716,3783,3937, 3965,4057,4140,4208,4214,4772,4773,479 0,5063,5142,5144,5289,5290,5293,5567,5 579,5641,5707,5716,5728,5795,5921,5922 ,6197,6711,6850,6885,7097,7294,7301,74 56,8452,8660,8767,9402,9844,10010,1012 5,10213,10333,10451,10666,23118,23228, 23239,23291,23369,25780,26191,26999,3 0849,50832,54106,56940,57162,57181,57 590,64581,79109,79931,84174,115727,11 8788,152539,153090,253260,338039,3873 57	ANGPT1,BIRC2,BIRC3,BCL2,CAMK2D,CASP8,CD24 7,CD28,CD86,CCR7,CR1,CR2,CSF2,CYLD,HBEGF,D USP4,DUSP5,DUSP6,EGFR,FCGR1A,FGF1,FOS,FYN, GAB1,GATA3,GFI1,HSP90AA1,ICAM2,IFNG,IL2RA,I L3RA,IL5,IL5RA,INPP5D,ITK,JTPR1,JTPR2,JAK1,KC NN4,LCP2,LGALS9,LTF,MARK3,MEF2C,MAP3K1,N FATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PDE4B,PDE4D,PIK3C 3,PIK3CA,PIK3R1,PRKACB,PRKCB,LGMN,PSMD1,P SMD10,PTEN,PTPRJ,RASA1,RASA2,RPS6KA3,SPTB N1,SYK,MAP3K7,TLR2,TXK,TYRO3,WIPF1,CUL3,IR S2,RIPK2,GRAP2,ELMO1,TANK,RASGRP1,PSMD14, TLR6,VAV3,CD226,TAB2,PLCL2,PHLPP1,FBXW11,P LM2,RASGRP3,PTPN22,CYFIP2,PIK3R4,TRAF1,TLR 9,DUSP22,PELI1,SLC39A10,WDFY1,CLEC7A,MAPK AP1,TNIP3,SLA2,RASGRP4,PIK3AP1,PAQR3,DAB2I P,RICTOR,CLEC4D,THEMIS
59	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0031347 regulação da resposta de defesa	-9,012903094 -6,464 119,798	103,154,301,308,329,330,335,347,604,834 ,841,919,940,942,1238,1378,1540,1690,17 94,1840,1848,2040,2113,2353,2534,2625, 2672,2693,2697,3083,3384,3442,3458,348 1,3534,3559,3592,3600,3673,3708,3709,3 716,3965,4057,4068,4142,4208,4214,4313 ,4772,4773,4780,4907,5054,5063,5289,53 21,5567,5641,5654,5707,5716,5734,5740, 5770,6095,6197,6346,6772,6846,6850,688 5,7004,7097,7292,7294,7301,7356,8554,8 600,8631,8767,8995,9173,9353,9447,9469 ,9844,9982,10010,10125,10213,10333,106 66,11221,23118,23291,23369,26191,2708 6,27347,30849,51606,54106,55600,57162, 57590,60386,64581,79931,80762,114548, 118788,148850,149233,153090,253260,33 8339,3480061	ADAR,ADRB2,ANXA1,ANXA5,BIRC2,BIRC3,APOA 1,APOD,BCL6,CASP1,CASP8,CD247,CD28,CD86,CC R7,CR1,CYLD,COCH,DOCK2,DUSP4,DUSP6,STOM, ETS1,FOS,FYN,GATA3,GFI1,GHSR,GJA1,UBE2K,IC AM2,IFNA5,IFNG,IGF2,IL1R1,IL2RA,IL12A,IL15,ITG A2,ITPR1,ITPR2,JAK1,LGALS9,LTF,SHCD1A,MAS1, MEF2C,MAP3K1,MMP2,NFATC1,NFATC2,NFKB1,N TSE,SERPINE1,PAK3,PIK3C3,PLA2G4A,PRKACB,L GMN,HTRA1,PSMD1,PSMD10,PTGER4,PTGIS,PTPN 1,RORA,RPS6KA3,CCL1,STAT1,XCL2,SYK,MAP3K7 ,TEAD4,TLR2,TNFSF4,TXK,TYRO3,SCGB1A1,PIAS1 ,TNFSF11,SOCS1,RIPK2,TNFSF18,IL1RL1,SLIT2,AI M2,CHST3,ELMO1,FCER1G,TANK,RASGRP1,PSMD 14,TLR6,CD226,DUSP10,TAB2,FBXW11,PUM2,PTPN 22,FOXP1,STK39,PIK3R4,ATP6V1H,TLR9,PACS1,PE LI1,WDFY1,SLC25A19,CLEC7A,TNIP3,NDFIP1,NLR P3,PIK3AP1,PIK3R6,IL23R,DAB2IP,RICTOR,CLEC4 D,TMEM173
60	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002768 via de sinalização de receptores da superfície celular de regulação da	-8,836658802 -6,307 87,527	284,396,817,841,919,940,942,1236,1378,1 380,1437,1839,1847,1848,1956,2209,2246 ,2353,2534,2549,2625,3320,3384,3458,35 59,3563,3567,3568,3635,3702,3708,3709, 3716,3783,3937,4140,4208,4214,4772,477 3,4790,5063,5142,5144,5290,5293,5567,5	ANGPT1,BCL2,CAMK2D,CASP8,CD247,CD28,CD86, CCR7,CR1,CR2,CSF2,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EGFR,F CGR1A,FGF1,FOS,FYN,GAB1,GATA3,HSP90AA1,IC AM2,IFNG,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,INPP5D,ITK,ITP R1,ITPR2,JAK1,KCNN4,LCP2,MARK3,MEF2C,MAP3 K1,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PDE4B,PDE4D,P

	resposta imune		579,5707,5716,5728,5795,5921,5922,6711,6850,6885,7294,7456,8452,8660,8767,9402,10844,10025,10213,10451,10666,23118,23228,23239,23291,25780,26191,26999,50852,50940,57181,64581,79109,84174,115727,152559,153090,253260,338339,338357	IK3CA,PIK3R1,PRKACB,PRKCB,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPRJ,RASA1,RASA2,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TXK,WIPF1,CUL3,IRS2,RIPK2,GRAP2,ELMO1,RASGRP1,PSMD14,VAV3,CD226,TAB2,PLCL2,PHLPP1,FBXW11,RASGRP3,PTPN22,CYFIP2,TRAT1,DUSP22,SLC39A10,CLEC7A,MAPKAP1,SLA2,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,RICTOR,CLEC4D,THEMIS
61	2 - Membro GO Processos Biológicos GO:0002757 transdução de sinal de ativação da resposta imune	-8,311089752 -5,861 82498	329,330,596,841,919,940,942,1236,1378,1380,1540,1846,1848,2209,2353,2534,2625,2672,3320,3384,3458,3635,3702,3708,3709,3783,3937,3965,4057,4208,4214,4772,4773,4790,5063,5142,5144,5289,5290,5295,5567,5579,5641,5707,5716,5728,5795,6197,6850,6885,7097,7294,7301,7456,8767,9402,9844,10010,10213,10333,10451,10666,23118,23228,23291,23369,26191,26999,38649,50852,54106,56940,57162,57181,57590,64581,79931,84174,118788,153090,338339,387357	BIRC2,BIRC3,BCL2,CASP8,CD247,CD28,CD86,CCR7,CR1,CR2,CYLD,DUSP4,DUSP6,FCGR1A,FOS,FYN,GATA3,GFI1,HSP90AA1,ICAM2,IFNG,INPP5D,ITK,ITPR1,KCNN4,LCP2,LGALS9,LTF,MEF2C,MAP3K1,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PDE4B,PDE4D,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PRKACB,PRKCB,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPRJ,RPS6KA3,SYK,MAP3K7,TLR2,TXK,TYRO3,WIPF1,RIPK2,GRAP2,ELMO1,TANK,PSMD14,TLR6,VAV3,CD226,TAB2,PLCL2,FBXW11,NLRP3,DUSP22,PTPN22,CYFIP2,PIK3R4,TRAT1,TLR9,DUSP22,PELI1,SLC39A10,WDFY1,CLEC7A,TNIP3,SLA2,PIK3AP1,DAB2IP,CLEC4D,THEMIS
62	2 - Membro GO Processos Biológicos GO:0045088 regulação da resposta imune inata	-8,103811249 -5,604 78404	103,329,330,841,942,1378,1540,1690,1846,2353,2534,2672,3093,3384,3442,3458,3481,3592,3708,3709,3716,3965,4057,4068,4208,4214,4313,4772,4773,4790,5063,5289,5567,5641,5707,5716,5770,6197,6772,6850,6885,7097,7294,7301,8554,8651,8767,9447,10010,10125,10213,10333,10666,11221,23118,23291,23369,26191,26999,49,54106,57162,57590,64581,79931,118788,338339,340061	ADAR,BIRC2,BIRC3,CASP8,CD86,CR1,CYLD,COCH,DUSP4,DUSP6,FOS,FYN,GFI1,IBTK,ICAM2,IFNAR1,IFNG,IGF2,IL12A,ITPR1,ITPR2,JAK1,LGALS9,LTF,SH2D1A,MEF2C,MAP3K1,MMP2,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PIK3C3,PRKACB,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTPN1,RPS6KA3,STAT1,SYK,MAP3K7,TLR2,TXK,TYRO3,PIAS1,SOCS1,RIPK2,AIM2,TANK,RASGRP1,PSMD14,TLR6,CD226,DUSP10,TAB2,FBXW11,LNK2,PTPN22,PIK3R4,TLR9,PELI1,WDFY1,CLEC7A,TNIP3,PELI1,PIK3R6,DAB2IP,CLEC4D,TMEM173
63	2 - Membro GO Processos Biológicos GO:0031349 regulação positiva da resposta de defesa	-7,142745715 -4,848 72443	329,330,843,940,942,1236,1540,1690,1846,2353,2534,2672,2697,3093,3384,3682,3690,3673,3708,3709,3965,4057,4068,4208,4214,4313,4772,4773,4790,5054,5063,5289,5321,5567,5641,5707,5716,5734,6197,6346,6846,6850,6885,7097,7292,7293,4,7301,8660,8767,8995,9174,9447,10010,10125,10213,10333,10666,23118,23369,26191,26999,30849,54106,57162,57590,64581,79931,118788,153090,338339,340061	BIRC2,BIRC3,CASP8,CD28,CD86,CCR7,CYLD,COCH,DUSP4,DUSP6,FOS,FYN,GFI1,GLA1,UBE2K,ICAM2,IL12A,IL15,ITGA2,ITPR1,ITPR2,LGALS9,LTF,SH2D1A,MEF2C,MAP3K1,MMP2,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PIK3C3,PLAUG4A,PRKACB,LGMN,SERPINE1,PAK3,PIK3C3,PLAUG4A,PRKACB,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTGER4,RPS6KA3,CCL3,XCL2,SYK,MAP3K7,TLR2,TNFSF4,TXK,TYRO3,TNFSF11,RIPK2,TNFSF18,IL1RL1,AIM2,TANK,RASGRP1,PSMD14,TLR6,CD226,TAB2,FBXW11,PTPN22,PIK3R4,TLR9,PELI1,WDFY1,CLEC7A,TNIP3,PIK3AP1,DAB2IP,CLEC4D,TMEM173

64	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0050778 regulação positiva da resposta imune	-7,133065309 -4,848 99,678	301,329,330,596,841,919,940,942,1236,1378,1380,1540,1691,1846,1848,2209,2353,2534,2625,2672,3093,3320,3384,3458,3594,3600,3635,3702,3708,3709,3783,3937,3965,4057,4068,4208,4214,4313,4602,4772,4773,4790,5063,5142,5144,5289,5295,5567,5579,5641,5707,5716,5728,5795,6197,6850,6885,7097,7292,7294,7301,8767,9402,9447,9844,10010,10125,10213,10333,10451,10666,23118,23228,23369,26191,26999,38008,38849,50578,53090,64581,79931,84174,114548,118788,153490,338339,340061,387357	ANXA1,BIRC2,BIRC3,BCL2,CASP8,CD247,CD28,CD86,CCR7,CR1,CR2,CYLD,COCH,DUSP4,DUSP6,FCGR1A,FOS,FYN,GATA3,GFI1,UBE2K,HSP90AA1,ICAM2,IFNG,IL12A,IL13,IL15,INPP5D,ITK,ITPR1,ITPR2,KCNN4,LCP2,LGALS9,LTF,SH2D1A,MEF2C,MAP3K1,MMP2,MYB,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PDE4B,PIK3CA,PIK3R1,PRKACB,PRKCB,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPRJ,RPS6KA3,SYK,MAP3K7,TLR2,TNFSF4,TXK,TYRO3,WIPF1,RIPK2,RAP2,AIM2,ELMO1,TANK,RASGRP1,PSMD14,TLR6,VAV3,CD226,TAB2,PLCL2,FBXW11,PUM2,PTPN22,CYFIP2,TBX21,PIK3R4,TRAF1,TLR9,DUSP22,SLC39A10,WDFY1,ZP4,CLEC7A,TNIP3,SLA2,NLRP3,PIK3AP1,IL23R,DAB2IP,CLEC4D,TMEM173,THEMIS
65	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002253 ativação da resposta imune	-6,984853906 -4,721 84,580	329,330,596,841,919,940,942,1236,1378,1380,1540,1846,1848,2209,2353,2534,2625,2672,3320,3384,3458,3635,3702,3708,3709,3783,3937,3965,4057,4208,4214,4772,4773,4790,5063,5142,5144,5289,5290,5295,5567,5579,5641,5707,5716,5728,5795,6197,6850,6885,7097,7294,7301,7456,8767,9402,9447,9844,10010,10213,10333,10451,10666,23118,23228,23291,23369,26191,26999,38008,38849,50852,54106,56940,57162,57181,57590,64581,79931,84174,118788,153490,338339,340061,387357	BIRC2,BIRC3,BCL2,CASP8,CD247,CD28,CD86,CCR7,CR1,CR2,CYLD,DUSP4,DUSP6,FCGR1A,FOS,FYN,GATA3,GFI1,HSP90AA1,ICAM2,IFNG,INPP5D,ITK,ITPR1,ITPR2,KCNN4,LCP2,LGALS9,LTF,MEF2C,MAP3K1,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PDE4B,PDE4D,PIK3CA,PIK3R1,PRKACB,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPRJ,RPS6KA3,SYK,MAP3K7,TLR2,TANK,PSMD14,TLR6,VAV3,CD226,TAB2,PLCL2,FBXW11,PUM2,PTPN22,CYFIP2,TBX21,PIK3R4,TRAF1,TLR9,DUSP22,SLC39A10,WDFY1,ZP4,CLEC7A,TNIP3,SLA2,NLRP3,PIK3AP1,IL23R,DAB2IP,CLEC4D,TMEM173,THEMIS
66	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0045089 regulação positiva da resposta imune inata	-6,636562843 -4,427 58,339	329,330,841,942,1540,1691,1846,1848,2353,2534,2672,3093,3384,3592,3708,3709,3965,4057,4068,4208,4214,4313,4772,4773,4790,5063,5289,5567,5641,5707,5716,6197,6850,6885,7097,7294,7301,8767,9447,10010,10125,10213,10333,10666,23118,23291,26191,30849,50618,54106,56940,57162,57590,64581,79931,118788,153490,338339,340061	BIRC2,BIRC3,CASP8,CD86,CYLD,COCH,DUSP4,DUSP6,FCER1G,FOS,FYN,GFI1,UBE2K,ICAM2,IL12A,ITPR1,ITPR2,LGALS9,LTF,SH2D1A,MEF2C,MAP3K1,MMP2,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PIK3C3,PRKACB,LGMN,PSMD1,PSMD10,RPS6KA3,SYK,MAP3K7,TLR2,TXK,TYRO3,RIPK2,AIM2,TANK,RASGRP1,PSMD14,TLR6,CD226,TAB2,FBXW11,PUM2,PTPN22,PIK3R4,TLR9,PELI1,WDFY1,CLEC7A,TNIP3,PIK3AP1,DAB2IP,CLEC4D,TMEM173
67	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002429 via de sinalização de	-5,805251721 -3,775 56,942	596,841,919,940,1236,1378,1380,2209,2534,2625,3320,3384,3458,3635,3702,3708,3709,3783,3937,4208,4772,4773,4790,5063,5142,5144,5290,5295,5567,5579,5707,5	BCL2,CASP8,CD247,CD28,CCR7,CR1,CR2,FCGR1A,FYN,GATA3,HSP90AA1,ICAM2,IFNG,INPP5D,ITK,ITPR1,ITPR2,KCNN4,LCP2,MEF2C,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PDE4B,PDE4D,PIK3CA,PIK3R1,PRKA

	receptores da superfície celular de ativação da resposta imune		716,5728,5795,6850,6885,7294,7436,8767 ,9402,9844,10213,10451,10666,23118,232 28,23291,26191,26999,50852,569401,5718 1,64581,84174,338339,387357	CB,PRKCB,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPRJ,SYK,MAP 3K7,TYK,WIPF1,RIPK2,GRAP2,ELMO1,PSMD14,VA V3,CD226,TAB2,PLCL2,FBXW11,PTPN22,CYFIP2,T RAT1,DUSP22,SLC39A10,CLEC7A,SLA2,CLEC4D,T HEMIS
68	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002218 ativação da resposta imune inata	-5,6050050038 -3,618 30/297	329,330,841,942,1540,1846,1848,2353,25 34,2672,3384,3708,3709,3965,4057,4208, 4214,4772,4773,4790,5063,5289,5567,564 1,5707,5716,6197,6850,6885,7097,7301,8 767,9447,10010,10213,10333,23118,23291 1,23369,26191,30849,54106,57162,57590, 64581,79931,118788,153090,338339,3408 61	BIRC2,BIRC3,CASP8,CD86,CYLD,DUSP4,DUSP6,FO S,FYN,GFI1,ICAM2,ITPR1,ITPR2,LGALS9,LTF,MEF2 C,MAP3K1,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PIK3C3, PRKACB,LGMN,PSMD1,PSMD10,RPS6KA3,SYK,M AP3K7,TLR2,TYRO3,RIPK2,AIM2,TANK,PSMD14,T LR6,TAB2,FBXW11,PUM2,PTPN22,PIK3R4,TLR9,PE LI1,WDFY1,CLEC7A,TNIP3,PIK3AP1,DAB2IP,CLEC 4D,TMEM173
69	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002223 via de sinalização de receptores do tipo toll	-5,3053848847 -3,351 32/161	329,330,841,942,1846,1848,2353,2672,30 65,4057,4208,4214,4790,5289,5641,6197, 6885,7097,7301,8767,10010,10333,23118, 23291,26191,30849,54106,57162,57590,7 9931,118788,153090	BIRC2,BIRC3,CASP8,CD86,DUSP4,DUSP6,FOS,GFI1, LGALS9,LTF,MEF2C,MAP3K1,NFKB1,PIK3C3,LGM N,RPS6KA3,MAP3K7,TLR2,TYRO3,RIPK2,TANK,TL R6,TAB2,FBXW11,PTPN22,PIK3R4,TLR9,PELI1,WD FY1,TNIP3,PIK3AP1,DAB2IP
70	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002758 transdução do sinal de ativação da resposta imune inata	-5,2004630052 -3,261 48/290	329,330,841,942,1540,1846,1848,2353,25 34,2672,3384,3708,3709,3965,4057,4208, 4214,4772,4773,4790,5063,5289,5567,564 1,5707,5716,6197,6850,6885,7097,7301,8 767,10010,10213,10333,23118,23291,233 69,26191,30849,54106,57162,57590,64581 1,79931,118788,153090,338339	BIRC2,BIRC3,CASP8,CD86,CYLD,DUSP4,DUSP6,FO S,FYN,GFI1,ICAM2,ITPR1,ITPR2,LGALS9,LTF,MEF2 C,MAP3K1,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PIK3C3, PRKACB,LGMN,PSMD1,PSMD10,RPS6KA3,SYK,M AP3K7,TLR2,TYRO3,RIPK2,TANK,PSMD14,TLR6,T AB2,FBXW11,PUM2,PTPN22,PIK3R4,TLR9,PELI1,W DFY1,CLEC7A,TNIP3,PIK3AP1,DAB2IP,CLEC4D
71	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0050851 via de sinalização mediada por receptores de antígenos	-5,1923663458 -3,235 48/225	596,919,940,1236,2534,2625,3458,3635,3 702,3783,3937,4208,4773,4790,5063,5142 ,5444,5290,5293,5379,5707,5716,5728,57 95,6850,6885,7294,8767,9402,10213,1045 1,23118,23228,23291,26191,50852,569401, 57181,84174,387357	BCL2,CD247,CD28,CCR7,FYN,GATA3,IFNG,INPP5D ,ITK,KCNN4,LCP2,MEF2C,NFATC2,NFKB1,PAK3,P DE4B,PDE4D,PIK3CA,PIK3R1,PRKCB,PSMD1,PSMD 10,PTEN,PTPRJ,SYK,MAP3K7,TXK,RIPK2,GRAP2,P SMD14,VAV3,TAB2,PLCL2,FBXW11,PTPN22,TRAT 1,DUSP22,SLC39A10,SLA2,THEMIS
72	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0034142 via de sinalização do receptor de tipo toll 4	-4,7717745438 -2,8958 25/119	329,330,841,1846,1848,2353,3965,4057,4 208,4214,4790,6197,6885,7097,8767,10011 0,10333,23118,23291,26191,57162,57590, 79931,118788,153090	BIRC2,BIRC3,CASP8,DUSP4,DUSP6,FOS,LGALS9,L TF,MEF2C,MAP3K1,NFKB1,RPS6KA3,MAP3K7,TLR 2,RIPK2,TANK,TLR6,TAB2,FBXW11,PTPN22,PELI1, WDFY1,TNIP3,PIK3AP1,DAB2IP
73	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002221 via de sinalização de	-4,6682817222 -2,8349 35/196	329,330,841,942,1540,1846,1848,2353,26 72,3965,4057,4208,4214,4790,5289,5641, 6197,6885,7097,7301,8767,10010,10333,2 3118,23291,23369,26191,30849,54106,57	BIRC2,BIRC3,CASP8,CD86,CYLD,DUSP4,DUSP6,FO S,GFI1,LGALS9,LTF,MEF2C,MAP3K1,NFKB1,PIK3C 3,LGMN,RPS6KA3,MAP3K7,TLR2,TYRO3,RIPK2,TA NK,TLR6,TAB2,FBXW11,PUM2,PTPN22,PIK3R4,TL

	receptores de reconhecimento de padrões		162,57590,64581,79931,118788,153090	R9,PELI1,WDFY1,CLEC7A,TNIP3,PIK3AP1,DAB2IP
74	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0050852 via de sinalização de receptores de células T	-4,499999407 -2,680 31/168	919,940,1236,2534,2625,3458,3635,3702, 3783,3937,4790,5063,5142,5144,5290,529 5,5707,5716,5728,5795,6885,7294,8767,9 402,10213,23118,23291,26191,50852,569 40,387357	CD247,CD28,CCR7,IYN,GATA3,IFNG,INPP5D,ITK,K CNN4,LCP2,NFKB1,PAK3,PDE4B,PDE4D,PIK3CA,PI K3R1,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPRJ,MAP3K7,TXK,R IPK2,GRAP2,PSMD14,TAB2,FBXW11,PTPN22,TRAF 1,DUSP22,THEMIS
75	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0034162 via de sinalização do receptor de tipo toll 9	-3,035109816 -1,530 16/79	1846,1848,2353,4208,4214,4790,5289,619 7,6885,8767,23118,23291,30849,54106,57 162,118788	DUSP4,DUSP6,FOS,MEF2C,MAP3K1,NFKB1,PIK3C3 ,RPS6KA3,MAP3K7,RIPK2,TAB2,FBXW11,PIK3R4,T LR9,PELI1,PIK3AP1
76	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0034138 via de sinalização do receptor de tipo toll 3	-2,839043488 -1,382 18/98	329,330,841,942,1846,1848,2353,4208,47 90,6197,6885,8767,10010,23118,23291,26 191,57162,57590	BIRC2,BIRC3,CASP8,CD86,DUSP4,DUSP6,FOS,MEF 2C,NFKB1,RPS6KA3,MAP3K7,RIPK2,TANK,TAB2,F BXW11,PTPN22,PELI1,WDFY1
77	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0034134 via de sinalização do receptor de tipo toll 2	-2,755063499 -1,319 16/84	1846,1848,2353,3965,4208,4214,4790,619 7,6885,7097,8767,10333,23118,23291,571 62,118788	DUSP4,DUSP6,FOS,LGALS9,MEF2C,MAP3K1,NFKB 1,RPS6KA3,MAP3K7,TLR2,RIPK2,TLR6,TAB2,FBX W11,PELI1,PIK3AP1
78	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0038124 via de sinalização do receptor de tipo toll TLR6:TLR2	-2,342381479 -1,016 14/76	1846,1848,2353,4208,4214,4790,6197,688 5,7097,8767,10333,23118,23291,57162	DUSP4,DUSP6,FOS,MEF2C,MAP3K1,NFKB1,RPS6K A3,MAP3K7,TLR2,RIPK2,TLR6,TAB2,FBXW11,PELI 1
79	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0038123 via de sinalização do receptor de tipo toll TLR1:TLR2	-2,342381479 -1,016 14/76	1846,1848,2353,4208,4214,4790,6197,688 5,7097,8767,10333,23118,23291,57162	DUSP4,DUSP6,FOS,MEF2C,MAP3K1,NFKB1,RPS6K A3,MAP3K7,TLR2,RIPK2,TLR6,TAB2,FBXW11,PELI 1
80	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002756 via de sinalização de receptores do tipo toll independentes de MyD88	-2,338719387 -1,015 15/84	329,330,841,1846,1848,2353,4208,4790,6 197,6885,8767,10010,23118,23291,79931	BIRC2,BIRC3,CASP8,DUSP4,DUSP6,FOS,MEF2C,NF KB1,RPS6KA3,MAP3K7,RIPK2,TANK,TAB2,FBXW1 1,TNIP3

81	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002755 via de sinalização de receptores de tipo toll dependentes de MyD88	-2,193138427 -0,915 15/87	1846,1848,2353,4208,4214,4790,6197,688 8,7097,8767,10333,23118,23291,54106,57 162	DUSP4,DUSP6,FOS,MEF2C,MAP3K1,NFKB1,RPS6K A3,MAP2K7,TLR2,RIPK2,TLR6,TAB2,FBXW11,TLR9 ,PELI1
82	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002223 via de sinalização de receptores de lectina de tipo C estimuladores	-2,097316204 -0,853 19/123	841,2534,3384,3708,3709,4772,4773,4790 ,5063,5567,5707,5716,6850,6885,10213,2 3118,23291,64588,338339	CASP8,FYN,ICAM2,ITPR1,ITPR2,NFATC1,NFATC2, NFKB1,PAK3,PRKACB,PSMD1,PSMD10,SYK,MAP3 K7,PSMD14,TAB2,FBXW11,CLEC7A,CLEC4D
83	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0035666 via de sinalização de receptores de tipo toll dependentes de TRIF	-2,091384559 -0,849 14/81	329,330,841,1846,1848,2353,4208,4790,6 197,6885,8767,10010,23118,23291	BIRC2,BIRC3,CASP8,DUSP4,DUSP6,FOS,MEF2C,NF KB1,RPS6KA5,MAP3K7,RIPK2,TANK,TAB2,FBXW1 1
84	2_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002220 via de sinalização de receptores da superfície celular de ativação da resposta imune inata	-2,023647181 -0,798 19/125	841,2534,3384,3708,3709,4772,4773,4790 ,5063,5567,5707,5716,6850,6885,10213,2 3118,23291,64588,338339	CASP8,FYN,ICAM2,ITPR1,ITPR2,NFATC1,NFATC2, NFKB1,PAK3,PRKACB,PSMD1,PSMD10,SYK,MAP3 K7,PSMD14,TAB2,FBXW11,CLEC7A,CLEC4D
85	3_ Resumo GO Processos Biológicos GO:0007169 via de sinalização de proteína tirosina cinases receptoras de transmembrana	-12,45003744 -9,472 145/928	27,113,154,238,284,347,356,374,526,528, 537,558,814,817,836,860,925,940,942,143 5,1436,1437,1499,1536,1759,1839,1846,1 847,1848,1946,1956,2060,2099,2185,2246 ,2257,2296,2534,2549,2625,2675,2692,26 93,3329,3479,3481,3516,3559,3563,3567, 3568,3672,3702,3708,3709,3710,3937,414 0,4145,4208,4313,4653,4790,4928,5063,5 137,5289,5290,5293,5494,5564,5567,5579 ,5584,5641,5707,5716,5728,5739,5770,57 91,5793,5795,5921,5922,6197,6314,6383, 6461,6711,6720,6772,6850,7074,7294,742 4,7498,7531,8440,8452,8569,8651,8660,8 767,8828,8997,9146,9844,9982,10018,101 25,10126,10213,10252,10451,11082,1115	ABL2,ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,APOD,FASLG, AREG,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,AXL,CAMK 4,CAMK2D,CASP3,RUNX2,CD8A,CD28,CD86,CSF1, CSF1R,CSF2,CTNNB1,CYBB,DNM1,HBEGF,DUSP4, DUSP5,DUSP6,EFNA5,EGFR,EPS15,ESR1,PTK2B,FG F1,FGF12,FOXC1,FYN,GAB1,GATA3,GFRA2,GHRH R,GHSR,HSP90AA1,IGF1,IGF2,RBP2,IL2RA,IL3RA,I L5,IL5RA,ITGA1,ITK,ITPR1,ITPR2,JAK1,LCP2,MAR K3,MATK,MEF2C,MMP2,MYOC,NFKBIA,ROR2,PAK3 ,PDE1C,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PR KACB,PRKCB,PRKCI,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTEN, PTGIR,PTPN1,PTPRE,PTPRG,PTPRJ,RASA1,RASA2, RPS6KA3,ATXN7,SDC2,SHB,SFTBN1,SREBF1,STAT 3,SYK,TIAM1,TXK,VEGFC,XBHLY WHAE,NCK2,CU L3,MKNK1,SOCS1,IRS2,RIPK2,NRP2,KALRN,HGS,E

		6,11214,23122,23239,23545,25780,25976, 26037,26230,26309,26999,30849,30850,3 0852,31422,31606,34106,34306,34341,35 023,79109,84159,103910,114882,115727, 121512,152559,153090,283260,81,329,33 0,335,444,596,834,841,960,1230,1236,164 7,1687,1880,1896,1906,2074,2146,2244,2 687,3458,3892,3896,3600,3688,3814,3965 ,4087,4142,4214,4853,5326,5734,6346,65 04,6754,6846,6885,7097,7476,7852,8600, 8743,8995,9064,9218,9290,10333,10507,1 0550,10783,10855,10920,11184,23118,23 369,26191,28996,29049,53832,54602,552 23,56911,56941,57102,57708,60675,7915 6,80762,84441,92140,112464,118788,128 239,146650,149233,168667,200734,25574 3,388121,317,463,649,753,1050,1449,145 3,1960,2335,2353,3037,3077,3397,3554,3 975,3987,4092,4435,4488,5034,5654,6262 ,6423,6660,7048,7049,7071,7123,7356,8C 39,8573,9353,10140,10963,23127,25937,5 0848,51256,51741,56937,63893,64750,28 3149,494470,301,308,339,440,476,1393,1 407,1583,2104,21801,2494,2673,29018,3024 ,3673,39901,4082,4478,5021,5547,5591,59 62,6095,6446,6751,7253,7292,7352,7421, 7491,7849,8195,8204,8554,8648,8856,9006 3,9604,9734,10002,10268,23543,27006,51 366,54331,55970,64754,84109,90390,255 738,333,493,540,610,682,1134,1316,1808, 1811,1959,2796,3033,3269,3663,4048,425 8,5032,5142,5144,5321,6506,6609,8061,9 173,51141,54434,55328,56729,84152,123 4,1889,3756,6653,7301,8428,9448,10221, 10771,11221,23291,27547,28951,51765,5 4986,57091,83605,131096,154043,286,28 7,288,323,1232,1233,1235,1237,1240,129 3,1525,17794,1907,2596,2668,2829,3680,3 786,3800,3983,4897,5288,5800,6441,6480 ,7903,8689,8650,9369,9855,10134,10487	LMO1,FGFBP1,BCL2L11,RASGRP1,DNAL4,PSMD14 ,SPRY1,VAV3,ESM1,PTP4A3,AKAP13,CLASP2,PHLP P1,ATP6V0A2,RASGRP3,TIPARP,SIPA1L1,FAM2,M YOF,CYFIP2,PIK3R4,ARHGEF3,TRAT1,PRKAG2,AT P6V1B,TLR9,ERRFI1,DDIT4,PHIP,MAPKAP1,ARID5 B,MYL12B,OSBPL8,RASGRP4,FGD4,PAQR3,DAB2I P,RICTOR,ACTN4,BIRC2,BIRC3,APOA1,ASPH,BCL2 ,CASP1,CASP8,CD44,CCR1,CCR7,GADD45A,DENAS ,GPR183,EDA,EDN1,ERCC6,EZH2,FGB,GJA1,IFNG1 L12A,IL13,IL15,ITGB1,KISS1,LGALS9,LTF,MAS1,M AP3K1,NOTCH2,PLAGL2,PTGER4,CCL1,SLAMF1,S STR4,XCL2,MAP3K7,TLR2,WNT7A,CXCR4,TNFSF1 1,TNFSF10,TNFSF18,MAP3K6,VAPA,GPR35,TLR6,S EMA4D,ARL6IP5,NEK6,HPSE,COPS8,MAP4K1,TAB 2,PUM2,PTPN22,HIPK2,IL19,IL20RA,NDFIP2,TRIM6 2,MAP3K7CL,DUSP22,PELI1,MIER1,PROK2,PLEKH F1,NDFIP1,ZNF622,MTDH,PRKCDBP,PIK3AP1,IQG AP3,PIK3R6,IL23R,BMPER,SPRED2,NPNT,TNFAIP8 L3,APAF1,ZFHX3,BMP1,LDLRAD4,CDKN2B,CIDEA ,CSNK1D,EGR3,FN1,FOS,HAS2,HFE,JD1,JLIP1,LHX 1,LEMS1,SMAD7,CITED1,MSX2,SERPINE1,HTRA1,R YR2,SFRP2,SOX5,TGFBR2,TGFBR3,KLF10,CLEC3B, SCGB1A1,USP9X,CASK,SLIT2,TOB1,CXCL13,NEDD 4L,WWTR1,F11R,TBC1D7,WWOX,PMEPA1,UBE2O, SMURF2,BCL9L,RNF165,ANXA1,ANXA5,APOBEC1, ASNS,ATP1A1,CBHBP,CRY1,CYP11A1,ESRRG,ACS L1,NR5A2,GFPT1,NR3C1,INHBA,ITGA2,LIPC,MARC KS,MSN,OXTR,PECP,PRKDC,RDX,RORA,SGK1,SST R1,TSHR,TNFSF4,UCP3,VDR,WT1,PANS,MKKS,NRI P1,PIAS1,NCOA1,NR1I2,PIAS2,RNF14,HDAC9,NR2E 3,RAMP3,RBFOX2,FOXP2,UBE3,GNG2,GNG12,SMY D3,ORPPR,MED30,PCSK9,AP_P1,ATP2B4,ATP7B,H CN2,BSG,CHRNA1,KLF6,DPYSL2,SLC26A3,IGKC,G NRH1,HADH,HRH1,IRF5,LTA4H,MGST2,P2RY11,PD E4B,PDE4D,PLA2G4A,SLC1A2,SMPD1,FOSL1,ILIRL 1,ENSG2,SSH1,RNLS,RETN,PPP1R1B,CCR5,ECE1,K CNH1,SORL1,TYRO3,STK24,MAP4K4,TRIB1,ZMYN D11,DUSP10,PBXW11,STK39,TRIB2,STK26,IL1K4,C ASS4,CCM2,KCNH8,CNKSR3,ANK1,ANK2,ANK3,A PBB2,CCR3,CCR4,CCR6,CCR8,CMKLR1,COL6A3,C

			10800,22885,23396,53079,57536,64218,1 20425,284340,302,894,3093,3442,5912,84 12,51429,57680,57829,115825,116496,21 9771,103,908,2776,5569,9467,29982,5569 7,84417,84959,94032,340061,4772,4773,9 402,913,2209,7456,338339	XADR,DOCK2,EDN2,GAP43,GDNF,XCR1,ITGA9,KC NQ3,KIFSC,ABLIM1,NRCAM,PIK3C2G,PTPRO,SFTP D,ST6GAL1,ST8SIA4,KLF7,NEMB,NRXN3,FARP2,P LXNC1,CAP1,CYSLTR1,ABLIM3,PIP5K1C,FEZF2,SE MA6A,SEMA4A,JAML,CXCL17,ANXA2,CCND2,UB E2K,IFNAS,RAP2B,BCAR3,SNX9,FNIP2,ZP4,WDFY2 ,PAM129A,CCNY,ADAR,CCNG1,GNAQ,PKIA,SH3B P5,NRBF2,VAC14,C2orf40,UBASH3B,CAMKN2,TM EM173,NFATC1,NFATC2,GRAP2,CD247,FCGR1A,W IPF1,CLEC4D
86	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0007169 via de sinalização de proteína tirosina cinases receptoras de transmembrana	-12,45003744 -9,472 145928	27,113,154,238,284,347,356,374,526,528, 537,558,814,817,836,860,925,940,942,143 5,1436,1437,1498,1536,1759,1839,1846,1 847,1848,1946,1956,2000,2098,2185,2246 ,2257,2296,2534,2549,2625,2675,2692,26 93,3320,3479,3481,3516,3559,3563,3567, 3568,3672,3702,3708,3709,3716,3937,414 0,4145,4208,4313,4653,4790,4920,5063,5 137,5289,5290,5295,5494,5564,5567,5579 ,5584,5641,5707,5716,5728,5739,5770,57 91,5793,5795,5921,5922,6197,6314,6383, 6461,6711,6720,6772,6850,7074,7294,742 4,7498,7531,8440,8452,8569,8651,8660,8 767,8828,8997,9146,9844,9982,10018,101 25,10126,10213,10252,10451,11082,1115 6,11214,23122,23239,23545,25780,25976, 26037,26230,26809,26999,30849,50650,5 0852,51422,51606,54106,54206,54541,55 023,79109,84159,103910,114882,115727, 121512,152559,153090,253260	ABL2,ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,APOD,FAS1,G, AREG,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,AXL,CAMK 4,CAMK2D,CASP3,RUNX2,CD8A,CD28,CD86,CSF1, CSF3R,CSF2,CTNNB1,CYBB,DNM1,HBEGF,DUSP4, DUSP5,DUSP6,EFNA5,EGFR,EPS15,ESR1,PTK2B,FG F1,FGF12,FOXC1,FYN,GAB1,GATA3,GFRA2,GHRH R,GHSR,HSP90AA1,IGF1,IGF2,IRF1,IL2RA,IL3RA,I L5,IL5RA,ITGA1,ITK,FTPR1,FTPR2,JAK1,LCP2,MAR K5,MATK,MEF2C,MMP2,MYOC,NFKB1,ROR2,PAK3 ,PDE1C,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PR KACB,PRKCB,PRKCI,LGMN,PSMD1,PSMD10,PTEN, PTGIR,PTPN1,PTPRE,PTPRG,PTPRJ,RASA1,RASA2, RPS6KA3,ATXN7,SDC2,SHB,SPTBN1,SREBF1,STAT 1,SYK,TIAM1,TXK,VEGFC,XDH,YWHAE,NCK2,CU L3,MKNK1,SOCS1,IRS2,RIPK2,NRP2,KAL,RN,HGS,E LMO1,FGFBP1,BCL2L11,RASGRP1,DNAJA4,PSMD14 ,SPRY1,VAV3,ESM1,PTP4A3,AK,AP13,CLASP2,PHLP P1,ATP6V0A2,RASGRP3,TIPARP,SIPA1L1,TIAM2,M YOF,CYTIP2,PIK3R4,ARHGEF3,TRAT1,PRKAG2,AT P6V1E1,B9,ERBB3,DDIT4,PHIP,MAPKAP1,ARID5 B,MYL12B,OSBPL8,RASGRP4,FGD4,PAQR3,DAB2I P,RICTOR
87	3_Membro GO Processos Biológicos GO:1902533 regulação positiva da transdução do sinal intracelular	-10,2465,4239 -7,426 144983	81,154,238,284,329,330,335,356,444,537, 558,596,817,834,841,923,940,960,1230,12 36,1435,1436,1477,1499,1647,1687,1839, 1847,1848,1880,1896,1906,1956,2074,209 9,2146,2185,2244,2246,2334,2549,2625,2 697,3458,3479,3481,3559,3563,3567,3568 ,3592,3596,3600,3672,3688,3716,3814,39 65,4057,4140,4142,4214,4653,4853,5063,	ACTN4,ADRB2,ALK,ANGPT1,BIRC2,BIRC3,APOA1, FASLG,ASPH,ATP6AP1,AXL,BCL2,CAMK2D,CASP1 ,CASP8,CD8A,CD28,CD44,CCR1,CCR7,CSF1,CSF1R, CSF2,CTNNB1,GADD45A,DFNA5,HBEGF,DUSP5,D USP6,GPR183,EDA,EDN1,EGFR,ERCC6,ESR1,EZH2, PTK2B,FGB,FGF1,FYN,GAB1,GATA3,GJA1,IFNG,IG F1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,IL12A,IL13,IL15,IT GA1,ITGB1,JAK1,KISS1,LGALS9,LTF,MARK3,MAS1

			5326,5494,5579,5707,5716,5728,5734,573	,MAP3K1,MYOC,NOTCH2,PAK3,PLAGL2,PPM1A,P
			9,5770,5795,5921,5922,6346,6504,6711,6	RKCB,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTGER4,PTGIR,PTPN1
			754,6846,6850,6885,7074,7097,7476,7498	,PTPRJ,RASA1,RASA2,CCL1,SLAMF1,SPTBN1,SSTR
			,7852,8440,8452,8600,8651,8660,8743,87	4,XCL2,SYK,MAP3K7,TIAM1,TLR2,WNT7A,XDH,C
			67,8905,9064,9218,9290,10018,10125,102	XCR4,NCK2,CUL3,TNFSF11,SOCS1,IRS2,TNFSF10,R
			13,10333,10507,10550,10783,10855,1092	IPK2,TNFSF18,MAP3K6,VAPA,GPR55,BCL2L11,RAS
			0,11184,23118,23369,25780,26191,28996,	GRP1,PSMD14,TLR6,SEMA4D,ARL6IP5,NEK6,HPSE,
			29949,50852,53832,54106,54602,55223,5	COPS8,MAP4K4,TAB2,PUM2,RASGRP3,PTPN22,HIP
			6911,56940,57162,57708,60675,79150,80	K2,IL19,TRAT1,IL20RA,TLR9,NDFIP2,TRIM62,MAP
			762,90441,92140,112464,114882,115727,	3K7CL,DUSP22,PELI1,MER1,PRODH2,PLEKHF1,NDF
			118788,128239,146850,149233,152559,15	IP2,ZNF622,MTDH,PRKCDBP,OSBPL8,RASGRP4,PI
			3090,168667,200734,253260,255743,3881	K3AP1,IQGAP3,PIK3R6,IL23E,PAQR3,DAB2IP,BMP
			21	ER,SPRED2,RICTOR,NPNT,TNFAIP8L2
88	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0070848 resposta a fator de crescimento	-9,39558867 -6,788 1360938	113,284,317,335,356,463,649,753,814,817	ADCY7,ANGPT1,APAF1,APOA1,FASLG,ZFHX3,BM
			,836,860,940,942,960,1030,1149,1437,145	P1,LDLRAD4,CAMK4,CAMK2D,CASP3,RUNX2,CD2
			3,1499,1839,1846,1847,1848,1906,1956,1	8,CD86,CD44,CDKN2B,CIDEA,CSF2,CSNK1D,CTNN
			960,2246,2287,2296,2335,2353,2354,2549	B1,HBEGF,DUSP4,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,EGR3
			,2625,3037,3077,3397,3516,3534,3559,35	,FCER1G,FOXC1,FN1,FOS,FYN,GAB1,GAL3A,H
			63,3567,3568,3688,3708,3709,3716,3975,	AS2,HFE,ID1,RBPJ,IL1R1,IL23A,IL3RA,IL5,IL5RA,I
			3987,4092,4140,4208,4435,4488,4790,492	TGB1,ITPR1,ITPR2,JAK1,LHX1,LIMS1,SMAD7,MAR
			0,5054,5137,5290,5295,5404,5567,5579,5	K3,MEF2C,CITED1,MSX2,NFKB1,ROR2,SERPINE1,P
			584,5654,5707,5716,5728,5770,5921,5922	DE1C,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKACB,PRKCB,PR
			,6197,6262,6423,6660,6711,6885,7048,70	KCI,HTRA1,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPN1,RASA1,R
			48,7071,7074,7123,7356,7424,7476,7498,	ASA2,RPS6KA3,RYR2,SFRP2,SOX5,SPTBN1,MAP3K
			7531,8239,8452,8569,8573,8660,8767,882	7,TGFBR2,TGFBR3,KLF10,TIAM1,CLEC3B,SCGB1A
			8,8997,9353,9962,10018,10125,10126,101	1,VEGFC,WNT7A,XDH,YWHAE,USP9X,CUL3,MKN
			48,10213,10252,10451,10563,11156,1121	K1,CASK,IRS2,RIPK2,NRP2,KALRN,SLIT2,FGFBP1,
			4,23239,23327,25780,25937,26230,26509,	BCL2L11,RASGRP1,DNAL4,TOB1,PSMD14,SPRY1,V
			28996,50030,50848,50852,51256,51741,5	AV3,CXCL13,PTP4A3,AKAP13,PHLPP1,NEDD4L,RA
			4206,54541,56937,56940,63893,64750,79	SGRP3,WWTR1,TIAM2,MYO7B,HIPK2,ARHGEF3,F11
			109,115727,121512,152559,153090,16866	R,TRAT1,TBC1D7,WWOX,ERRFI1,DDIT4,PMEPA1,
			7,253260,255743,283149,494470	DUSP22,UBE2O,SMURF2,MAPK,AP3,RASGRP4,FGD
				4,PAQR3,DAB2IP,EMPER,RICTOR,NPNT,BCL9L,RN
				F165
89	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0032870 resposta celular a estímulo hormonal	-9,393669113 -6,788 1233822	113,284,301,308,339,440,476,526,528,537	ADCY7,ANGPT1,ANXA1,ANXA3,APOBEC1,ASNS,A
			,817,1393,1407,1437,1499,1583,1839,184	TP1A1,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,CAMKK2,C
			7,1848,1906,1956,2009,2104,2180,2244,2	RHBP,CRY1,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,HBEGF,DUSP
			246,2335,2353,2494,2534,2549,2673,2692	5,DUSP6,EDN1,EGFR,ESRRG,ACSL1,FGB,FGF
			,2693,2908,3479,3481,3539,3563,3567,35	1,FN1,FOS,NR5A2,FYN,GAB1,GFPT1,GHRHR,GHSR,
			68,3624,3673,3716,3991,4082,4140,4142,	NR3C1,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,INHBA,I

			4208,4478,4488,4790,5021,5289,5290,529	TGA2,JAK1,LIPC,MARCKS,MARK3,MAS1,MEF2C,
			5,5494,5547,5564,5567,5579,5584,5591,5	MSN,MSX2,NFKB1,OXTR,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,P
			707,5716,5734,5770,5791,5921,5922,5962	PM1A,PRCP,PRKAB1,PRKACB,PRKCB,PRKCI,PRK
			,6095,6446,6711,6720,6751,6754,6772,72	DC,PSMD1,PSMD10,PTGER4,PTPN1,PTPRE,RASA1,
			53,7292,7352,7421,7490,7849,8195,8204,	RASA2,RDX,RORA,SGK1,SPTBN1,SREBF1,SSTR1,S
			8452,8554,8648,8651,8660,8856,9063,935	STR4,STAT1,TSHR,TNFSF4,UCP3,VDR,WT1,PAX8,
			3,9604,9734,10002,10125,10213,10268,11	MKKS,NRIP1,CUL3,PIAS1,NCOA1,SOCS1,IRS2,NR1I
			214,23543,23545,25780,27086,30849,513	2,PIAS2,SLIT2,RNF14,HDAC9,NR2E3,RASGRP1,PSM
			66,51422,51606,54106,54226,54331,5502	D14,RAMP3,AKAP13,RBPJOS,ATP6V0A2,RASGRP3
			3,55970,56937,64754,84109,90390,11488	,FOXP1,PIK3R4,UBR5,PRKAC2,ATP6V1H,TLR9,ERR
			2,115727,152559,153090,255738	FI1,GNG2,PHIP,GNG12,PMEPA1,SMYD3,QKI,PPR,ME
				D30,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,PCSK9
90	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0010243 resposta a composto organonitrogenado	-9,243279239 -6,673 138,9961	113,154,284,301,308,329,333,339,374,440 ,444,493,526,528,537,540,590,610,682,81 7,834,836,1134,1316,1393,1407,1437,149 9,1583,1808,1811,1839,1847,1848,1906,1 936,1959,2185,2246,2353,2534,2549,2673 ,2692,2693,2697,2796,3033,3269,3397,34 79,3481,3559,3563,3567,3568,3596,3663, 3673,3709,3716,3990,4048,4082,4140,414 2,4208,4258,4313,4435,4790,5021,5032,5 142,5164,5289,5290,5295,5321,5494,5564 ,5567,5579,5584,5591,5707,5716,5728,57 34,5770,5791,5921,5922,6262,6383,6506, 6609,6711,6720,6751,6754,6772,7071,707 4,7352,7490,8061,8452,8651,8660,8767,9 173,9353,9734,10125,10213,23545,25780, 26191,30849,51141,51422,51606,54106,5 4206,54331,54434,55023,55328,55970,56 729,84109,84152,114882,115727,152559, 153090,255738	ADCY7,ADRB2,ANGPT1,ANXA1,ANXA5,BIRC2,AP LP1,APOBEC1,AREG,ASNS,ASPH,ATP2B4,ATP6V1 B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,ATP7B,BCL2,HCN2,BSG,C AMKK2D,CASP1,CASP3,CHRNA1,KLF6,CRHBP,CRY 1,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,DPYSL2,SLC26A3,HBEG F,IDUA,DUSP6,EDN1,EGFR,EGR2,PTK2B,FGF1,FO SFYN,GAB1,GFPT1,GHRHR,GHSR,GJA1,GNRH1,H ADH,HRH1,ID1,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,I L13,IRF5,ITGA2,ITPR2,JAK1,LIPC,LTA4H,MARCKS, MARK3,MAS1,MEF2C,MGST2,MMP2,CTTED1,NFKB 1,OXTR,P2RY11,PDE4B,PDE4D,PIK3C3,PIK3CA,PIK 3R1,PLA2G4A,PPM1A,PRKAB1,PRKACB,PRKCB,PR KCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTGER4,PTPN1, PTPRE,RASA1,RASA2,RYR2,SDC2,SLC1A2,SMPD1, SPTBN1,SREBF1,SSTR1,SSTR4,STAT1,KLF10,TIAM 1,UCP3,WT1,FOSL1,CUL3,SOCS1,IRS2,RIPK2,IL1RL 1,SLIT2,HDAC9,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A2,RAS GRP3,PTPN22,PIK3R4,INSIG2,PRKAG2,ATP6V1H,T LR9,ERRFI1,GNG2,SSH1,PHIP,RNLS,GNG12,RETN, QRFPR,PPP1R1B,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP ,PCSK9
91	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0023014 transdução do sinal por fosforilação de proteína	-8,988894474 -6,450 129,8888	134,238,284,335,537,649,817,900,1230,12 34,1236,1436,1437,1499,1647,1839,1846, 1847,1848,1880,1889,1906,1956,2074,209 9,2146,2185,2244,2246,2257,2335,2353,2 534,2549,3397,3479,3481,3559,3563,3567 ,3568,3624,3672,3688,3716,3756,3814,39 65,4140,4208,4214,4653,4790,4920,5021	ADRB2,ALK,ANGPT1,APOA1,ATP6AP1,BMP1,CAM K2D,CD44,CCR1,CCR5,CCR7,CSF1R,CSF2,CTNNB1, GADD45A,HBEGF,DUSP4,DUSP5,DUSP6,GPR183,E CE1,EDN1,EGFR,ERCC6,ESR1,EZH2,PTK2B,FGB,FG F1,FGF12,FN1,FOS,FYN,GAB1,ID1,IGF1,IGF2,IL2RA ,IL3RA,IL5,IL5RA,INHBA,ITGA1,ITGB1,JAK1,KCNH 1,KISS1,LGALS9,MARK3,MEF2C,MAP3K3,MYOC,N

				3063,3707,5716,5728,5734,5770,5795,592	FKB1,ROR2,OXTR,PAK3,PSMD1,PSMD10,PTEN,PT
				1,5922,6197,6346,6423,6504,6609,6653,6	GER4,PTPN1,PTPRJ,RASA1,RASA2,RPS6KA3,CCL1,
				711,6754,6846,6850,6885,7048,7074,7301	SFRP2,SLAMF1,SMPD1,SORL1,SPTBN1,SSTR4,XCL
				,7476,7498,7852,8428,8452,8800,8860,87	2,SYK,MAP3K7,TGFBR2,TIAM1,TYRO3,WNT7A,XD
				67,9064,91446,9290,9448,10125,10213,102	H,CXCR4,STK24,CUL3,TNFSF11,IRS2,RIPK2,MAP3
				21,10252,10333,10550,10771,11184,1122	K6,HGS,GPR55,MAP4K4,RASGRF1,PSMD14,TRIB1,
				1,23118,23239,23291,25780,26191,27347,	SPRY1,ILR6,ARL6IP5,ZMYND11,MAP4K1,DUSP10,
				28951,28996,51763,54108,54206,54986,5	TAB2,PHLPP1,FBXW11,RASGRP3,PTPN22,STK39,T
				6911,56940,57091,60673,83605,90441,11	RIB2,HIPK2,STK26,TLR9,ERRFI1,UL4,MAP3K7CL...
				2464,115727,128239,131096,146850,1525	DUSP22,CASS4,PROK2,CCM2,ZNF622,PRKCDBP,R
				59,153090,154043,168667,200734,255743	ASGRP4,IQGAP3,KCNH8,PIK3R6,PAQR3,DAB2IP,C
				,388121	NKSR3,BMPER,SPRED2,NPNT,TNFAIP8L3
92	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0071363 resposta celular a estímulo de fator de crescimento	-8,774215578 -6,264 131913	113,284,317,335,649,753,814,817,836,860 ,940,942,960,1030,1149,1437,1453,1499,1 839,1846,1847,1848,1906,1956,1960,2246 ,2257,2296,2335,2353,2534,2549,2625,30 37,3077,3397,3516,3559,3563,3567,3568, 3688,3708,3709,3716,3975,3987,4092,414 0,4208,4435,4488,4790,4920,5054,5137,5 290,5295,5494,5567,5579,5584,5634,5707 ,5716,5728,5770,5921,5922,6197,6262,64 23,6660,6711,6885,7048,7049,7071,7074, 7123,7424,7476,7498,7531,8239,8452,856 9,8573,8660,8767,8828,8997,9353,9982,1 0018,10125,10126,10140,10213,10232,10 451,10563,11156,11214,23239,23327,257 80,25937,26230,26909,28996,50650,5084 8,50852,51741,54206,54541,56937,56940, 63893,64750,79109,113727,121512,15235 9,153090,168667,253260,255743,283149, 494470	ADCY7,ANGPT1,ANXA1,ANXA5,APOBEC1,AREG, ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,BSG,CAMK2D,KLF 6,CREBBP,CRY1,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,HBEGF,DU SP5,DUSP6,EDN1,EGFR,EGR2,FGF1,FYN,GAB1,GFP T1,GHRHR,GHSR,GJA1,GNRH1,HADHB,ID1,IGF1,IGF 2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,IRF5,JAK1,LIPC,LTA4H, MARCKS,MARK3,MASL,CITED1,NFKB1,OXTR,PIK 3CG,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKACB,PRK
93	3_Membro GO Processos Biológicos GO:1901652 resposta a peptídeo	-8,501699735 -6,027 98629	113,284,301,308,339,374,526,528,537,682 ,817,1316,1393,1407,1437,1499,1583,183 9,1847,1848,1908,1956,1959,2246,2534,2 549,2673,2692,2693,2697,2796,3033,3397 ,3479,3481,3559,3563,3567,3568,3663,37 16,3990,4048,4082,4140,4142,4435,4790, 5021,5289,5290,5295,5494,5564,5567,557 9,5584,5591,5707,5716,5770,5791,5921,5	ADCY7,ANGPT1,ANXA1,ANXA5,APOBEC1,AREG, ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,BSG,CAMK2D,KLF 6,CREBBP,CRY1,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,HBEGF,DU SP5,DUSP6,EDN1,EGFR,EGR2,FGF1,FYN,GAB1,GFP T1,GHRHR,GHSR,GJA1,GNRH1,HADHB,ID1,IGF1,IGF 2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,IRF5,JAK1,LIPC,LTA4H, MARCKS,MARK3,MASL,CITED1,NFKB1,OXTR,PIK 3CG,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKACB,PRK

94	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0000165 cascata de MAPK	-8,2449764443 -5,803 123,8858	154,238,284,335,537,649,817,960,1230,12 34,1236,1436,1437,1499,1647,1839,1846, 1847,1848,1880,1889,1906,1956,2074,209 9,2146,2185,2244,2246,2257,2335,2353,2 534,2549,3397,3479,3481,3559,3563,3567 ,3568,3624,3672,3698,3716,3814,3965,41 40,4208,4214,4653,4790,4920,5021,5063, 5707,5716,5728,5734,5770,5795,5921,592 2,6197,6346,6423,6504,6689,6953,6711,6 734,6846,6850,6885,7074,7476,7498,7852 ,8438,8452,8600,8660,8767,9064,9146,92 90,9448,10125,10213,10221,10252,10333, 10550,10771,11184,11221,23118,23239,2 3291,25780,26191,28951,28996,51765,54 106,54206,54986,56911,369940,660758,836 05,90441,112464,115727,128239,146850, 152559,153090,154043,166667,200734,25 5743,388121	CB,PRKCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTPN1,PTPRE,R ASA1,RASA2,SPTBN1,SREBF1,SSTR1,SSTR4,STAT1 ,KLF10,UCP3,CUL3,SOCS1,IRS2,RIPK2,IL1RL1,HDA C9,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A2,RASGRP3,PTPN22 ,PIK3R4,INSIG2,PRKAG2,ATP6V1H,TLR9,ERRFI1,G NG2,PHIP,GNG12,RETN,QRFPR,OSBPL8,RASGRP4, PAQR3,DAB2IP,PCSK9
95	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0006935 quimiotaxia	-8,1845039968 -5,758 123,8860	27,284,286,287,288,301,323,335,817,1230 ,1232,1233,1234,1235,1236,1237,1240,12 93,1435,1436,1437,1523,1759,1794,1808, 1839,1847,1848,1906,1907,1946,1956,195 9,1960,2185,2246,2335,2534,2596,2625,2 668,2829,3269,3320,3458,3559,3563,3567 ,3568,3592,3672,3673,3680,3688,3716,37 86,3800,3965,3975,3983,4140,4313,4897, 5054,5063,5142,5144,5288,5290,5707,571 6,5795,5800,5921,5922,6197,6346,6383,6 441,6480,6711,6846,6850,7074,7424,7852 ,7903,8061,8440,8452,8600,8669,8650,86 60,8828,8993,8997,9353,9369,9855,10123 ,10154,10213,10451,10487,10507,10563,1 0800,22885,23122,23396,25780,55079,57	ABL2,ANGPT1,ANK1,ANK2,ANK3,ANXA1,APBB2, APOA1,CAMKD2D,CCR1,CCR3,CCR4,CCR5,CCR6,CC R7,CCR8,CMKLR1,COL6A3,CSF1,CSF1R,CSF2,CXA DR,DNM1,DOCK2,DPYSL2,HBEGF,DUSP5,DUSP6,E DN1,EDN2,EFNA5,EGFR,EGR2,EGR3,PTK2B,FGF1,F N1,FYN,GAP43,GATA3,GDNF,XCR1,HRH1,HSP90A A1,IFNG,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,IL12A,ITGA1,ITG A2,ITGA9,ITGB1,JAK1,KCNQ3,KIF5C,LGALS9,LHX 1,ABLIM1,MARK3,MMP2,NRCAM,SERPINE1,PAK3, PDE4B,PDE4D,PIK3C2G,PIK3CA,PSMD1,PSMD10,P TPRJ,PTPRO,RASA1,RASA2,RPS6KA3,CCL1,SDC2,S FRP1,ST6GAL1,SPTBN1,XCL2,SYK,THAM1,VEGFC, CXCR4,ST8SIA4,FOSL1,NCK2,CUL3,TNFSF11,KLF7, NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,KALRN,SLIT2,NRXN3,F ARP2,RASGRP1,PLXNC1,PSMD14,VAV3,CAP1,SEM

96	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0042330 taxia	-8,154,595,379 -5,735 123/8661	27,284,286,287,288,301,323,335,817,1230 ,1232,1233,1234,1235,1236,1237,1240,12 93,1435,1436,1437,1523,1759,1794,1808, 1839,1847,1848,1906,1907,1946,1956,195 9,1960,2185,2246,2335,2534,2596,26252 668,2829,3269,3320,3458,3559,3563,3567 ,3568,3592,3672,3673,3680,3688,3716,37 86,3800,3965,3975,3983,4140,4315,48897, 5054,5063,5142,5144,5288,5290,5707,571 6,5795,5800,5921,5922,6197,6346,6383,6 441,6480,6711,6846,6850,7074,7424,7852 ,7903,8061,8440,8452,8600,8669,8690,86 60,8828,8995,8997,9353,9369,9835,10125 ,10154,10213,10851,10887,10507,10563,1 0800,22885,23122,23396,25780,55079,57 536,60675,64218,1039910,115727,120425, 152559,153090,284340,494470	356,60675,64218,1039910,115727,120425, 152559,153090,284340,494470	A4D,CXCL13,CYSLTR1,ABLIM3,CLASP2,PIP5K1C, RASGRP3,FEZF2,SEMA6A,PROK2,SEMA4A,MYL12 B,RASGRP4,JAML,PAQR3,DAB2IP,CXCL17,RNF165
97	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0001934 regulação positiva da fosforilação de proteínas	-7,385129946 -5,041 135/9999	113,154,238,284,302,493,537,596,649,817 ,894,960,1230,1236,1435,1436,1437,1453, 1499,1647,1839,1847,1848,1880,1906,194 6,1956,2074,2099,2146,2180,2185,2244,2 246,2534,2549,2675,3077,3093,3442,3458 ,3479,3481,3859,3563,3567,3568,3592,35 96,3600,3624,3672,3688,3716,3814,3937, 3965,4057,4082,4140,4142,4214,5063,529 0,5567,5707,5716,5728,5734,5770,5912,5 921,5922,6346,6423,6504,6711,6754,6846 ,6850,6885,7048,7074,7424,7476,7498,78 52,8412,8428,8452,8600,8651,8660,8767, 8995,9064,9290,10125,10213,10233,1050 7,10530,10920,11188,23118,25780,26191, 27347,28996,51422,51439,51765,54106,5 691,56040,57600,57829,60675,64754,90 401,112464,114882,115727,115825,11649 6,128239,146850,149233,152559,153090, 168667,219771,253260,255743,388121	ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT,ANXA2,ATP2B4,ATP 6AP1,BCL2,BMP1,CAMK2D,CCND2,CD44,CCR1,CC R7,CSF1,CSF1R,CSF2,CSNK1D,CTNNB1,GADD45A, HBEGF,DUSP5,DUSP6,GPR183,EDN1,EPNA5,EGFR, EIF2C6,ESR1,EZH2,ACSL1,PI3KCB,FGB,FGF1,FYN,G AB1,GFRA2,HFE,UBE2K,IFNA5,IFNG,IGF1,IGF2,IL2 RA,IL3RA,IL5,IL5RA,IL12A,IL13,IL15,INHBA,ITGA3 ,ITGB1,JAK1,KISS1,LCP2,LGALS9,LTF,MARCKS,M ARK3,MAS1,MAP3K1,PAK3,PIK3CA,PRKACB,PSM D1,PSMD10,PTEN,PTGER4,PTPN1,RAP2B,RASA1,R ASA2,CCL1,SFRP2,SLAMF1,SPTBN1,SSTR4,XCL2,S YK,MAP3K7,TGFBR2,TIAM1,VEGFC,WNT7A,XDH, CXCR4,BCAR3,STK24,CUL3,TNFSF11,SOCS1,IRS2, RIPK2,TNFSF18,MAP3K6,GPR55,RASGRP1,PSMD14 ,TLR6,SEMA4D,ARL6IP5,COPS8,MAP4K1,TAB2,RA SGRP3,PTPN22,STK39,HIPK2,PRKAG2,SNX9,STK26, TLR9,MAP3K7CL,DUSP22,PNP2,ZPA,PROK2,SMYD 3,ZNF622,PRKCDBP,OSBPL8,RASGRP4,WDFY2,IFA M129A,IQGAP3,PIK3R6,IL23R,PAQR3,DAB2IP,BMP	

98	3_Membro GO Processos Biológicos GO:19011653 resposta celular a peptídeo	-7,350286479 -5,019 81/514	113,284,308,339,526,528,537,817,1316,1393,1437,1499,1583,1839,1847,1848,1906,1956,2246,2534,2549,2673,2692,2693,3397,3479,3481,3559,3563,3567,3568,3716,4082,4140,4142,4790,5289,5290,5295,5494,5564,5567,5579,5584,5591,5707,5716,5770,5791,5921,5922,6711,6720,6751,6754,6772,7071,8452,8651,8660,8767,9173,9734,10125,10213,23545,25780,26191,30849,51422,51606,54106,54306,54331,55023,59700,114882,115727,152559,153090,255738	ADCY7,ANGPT1,ANXA5,APOBEC1,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,CAMK2D,KLF6,CREBBP,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,FGF1,FYN,GAB1,GFPT1,GHRHR,GHSR,ID1,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5RA,JAK1,MARCKS,MARCKS,MARK3,MAS1,NFKB1,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKACB,PRKCB,PRKCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTPN1,PTPRE,RASA1,RASA2,SPTBN1,SREBF1,STR1,SSTR4,STAT1,KLF10,CUL3,SOCS1,IRS2,RIPK2,IL1RL1,HDAC9,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A2,RASGRP3,PTPN22,PIK3R4,PIKAG2,ATP6V1H,TLR9,ERBB4,GNG2,PHIP,GNG12,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,PCSK9
99	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0043434 resposta a hormônio peptídico	-7,276231886 -4,951 90/594	113,284,301,308,339,374,526,528,537,682,817,1393,1407,1437,1499,1583,1839,1847,1848,1906,1956,1959,2246,2534,2549,2673,2692,2693,2697,2796,3033,3479,3481,3559,3563,3567,3568,3716,3990,4048,4082,4140,4142,4435,4790,5021,5289,5290,5295,5494,5564,5567,5579,5584,5591,5707,5716,5770,5791,5921,5922,6711,6720,6751,6754,6772,7352,8452,8651,8660,9734,10125,10213,23545,25780,30849,51141,51422,51606,54106,54306,54331,55023,55970,114882,115727,152559,153090,255738	ADCY7,ANGPT1,ANXA1,ANXA5,APOBEC1,AREG,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,BSG,CAMK2D,CRHBP,CRY1,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,EGR2,FGF7,FYN,GAB1,GFPT1,GHRHR,GHSR,GIA1,GNRH1,HADH,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,JAK1,LIPC,LTA4H,MARCKS,MARCKS,MARK3,MAS1,CITED1,NFKB1,ONTR,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKACB,PRKCB,PRKCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTPN3,PTPRE,RASA1,RASA2,SPTBN1,SREBF1,SSTR1,SSTR4,STAT1,UCP3,CUL3,SOCS1,IRS2,HDAC9,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A2,RASGRP3,PIK3R4,PIKAG2,PRKAG2,ATP6V1H,TLR9,ERBB4,GNG2,PHIP,GNG12,RETN,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,PCSK9
100	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0043408 regulação da cascata de MAPK	-7,144146217 -4,848 111/786	154,238,284,537,649,817,960,1230,1236,1436,1437,1499,1647,1839,1846,1847,1848,1880,1888,1906,1956,2074,2099,2146,2185,2244,2246,2335,2534,2549,3397,3479,3481,3559,3563,3567,3568,3624,3672,3688,3716,3814,3965,4140,4214,4653,5063,5707,5716,5728,5770,5795,5921,5922,6346,6423,6504,6609,6653,6711,6754,6846,6850,6885,7074,7476,7498,7852,8428,8452,8660,8660,8767,9064,9146,9290,9448,10125,10213,10221,10252,10333,10550,11077,11184,11221,23118,23239,25780,26191,51422,51606,54106,54306,54331,55023,55970,114882,115727,152559,153090,255738	ADRB2,ALK,ANGPT1,ATP6AP1,BMP1,CAMK2D,CD44,CCR1,CCR7,CSF1R,CSF2,CTNNB1,GADD45A,HB-EGF,DUSP4,DUSP5,DUSP6,GPR183,ECE1,EDN1,EGFR,ERCC6,ESR1,EZH2,PTK2B,FGB,FGF1,FYN,FYN,GAB1,ID1,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,INHBA,ITGA1,ITGB1,JAK1,KISS1,LGALS9,MARK3,MAP3K1,MYOC,PAK3,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPN1,PTPRE,RASA1,RASA2,CCL1,SFRP2,SLAMF1,SMPD1,SORL1,SPTBN1,SSTR4,XCL2,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,XDH,CXCR4,STK24,CUL3,TNFSF11,IRS2,RIPK2,MAP3K6,HGS,GPR55,MAP4K4,RASGRP1,PSMD14,TLR9,ERBB4,GNG2,PHIP,GNG12,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,PCSK9

			28951,28906,51765,54106,54206,54986,5 6911,56940,60673,90441,112464,115727, 128239,146850,152559,153090,154043,16 8667,200734,255743,388121	SP10,TAB2,PHLPP1,RASGRP3,PTPN22,TRIB2,HIPK2 ,STK26,FLR9,ERRFI1,ULK4,MAP3K7CL,DUSP22,PR OK2,ZNF622,PRKCDBP,RASGRP4,IQGAP3,PIK3R6,P AQR3,DAB2IP,CNKSR3,BMPER,SPRED2,NPNT,TNF AIP8L3
101	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0071417 resposta celular a composto organonitrogenado	-6,761409384 -4,533 90663	113,284,308,333,339,493,526,528,537,610 ,817,1316,1393,1437,1499,1583,1811,183 9,1847,1848,1906,1956,2246,2534,2549,2 673,2692,2693,3269,3397,3479,3481,3559 ,3563,3567,3568,3709,3716,4082,4140,41 42,4208,4313,4790,5032,5142,5144,5289, 5290,5295,5494,5564,5567,5579,5584,559 1,5707,5716,5770,5791,5921,5922,6262,6 711,6720,6751,6754,6772,7071,7490,8452 ,8651,8660,8767,9173,9353,9734,10125,1 0213,23945,25780,26198,30849,31422,51 606,54106,54206,54331,54434,55023,559 70,114882,115727,152559,153090,255738	ADCY7,ANGPT1,ANXA5,APLP1,APOBEC1,ATP2B4, ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,HCN2,CAMK2D,KL F6,CRHBP,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,SLC26A3,HBEGF F,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,FGF3,FYN,GAB1,GPPT 1,GHRHR,GHSR,HRH1,ID1,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA, IL5,IL5RA,ITPR2,JAK1,MARCKS,MARK3,MAS1,ME F2C,MMP2,NFKB1,P2RY11,PDE4B,PDE4D,PIK3C3,P IK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAA1,PRKACB,PRKCB,P RKCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTPN1,PTPRE,RASA 1,RASA2,RYR2,SPTBN1,SREBF1,SSTR1,SSTR4,STA T1,KLF10,WT1,CUL3,SOCS1,IRS2,RIPK2,ILIRL1,SLI T2,HDAC9,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A2,RASGRP3 ,PTPN22,PIK3R4,PRKAG2,ATP6V1H,TLR9,ERRFI1,G NG2,SSH1,PHIP,GNG12,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3, DAB2IP,PCSK9
102	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0043549 regulação de atividade de cinases	-6,199216891 -4,081 121914	103,113,154,238,284,493,817,836,894,900 ,1030,1236,1435,1436,1437,1647,1839,18 46,1847,1848,1906,1946,1956,2074,2146, 2180,2185,2246,2534,2549,2776,3481,355 9,3563,3567,3568,3672,3716,3937,4057,4 082,4140,4142,4214,5063,5290,5295,5564 ,5567,5569,5707,5716,5728,5770,5795,59 12,5921,5922,6423,6609,6653,6711,6850, 6885,7048,7074,7852,8428,8440,8452,860 0,8651,8660,8767,9064,9146,9467,10125, 10213,10221,10292,10333,10451,10920,1 1184,11214,11221,23118,25780,25937,26 191,27347,28951,29982,30849,51422,514 29,51765,54106,54206,55697,56911,5694 0,57829,60675,64754,84152,84417,84955, 90441,94032,114882,115727,128239,1468 50,149233,152559,153090,200734,219771 ,388121	ADAR,ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,ATP2B4,CAM K2D,CASP3,CCND2,CCNG1,CDKN2B,CCR7,CSF1,C SF1R,CSF2,GADD45A,HBEGF,DUSP4,DUSP5,DUSP6 ,EDN1,EFNA5,EGFR,ERCC6,EZH2,ACSL1,PTK2B,FG F1,FYN,GAB1,GNAQ,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,I TGA1,JAK1,LCP2,LTF,MARCKS,MARK3,MAS1,MA P3K1,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRKAB1,PRKACB,PKI A,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPN1,PTPRE,RAP2B,RAS A1,RASA2,SFRP2,SMPD1,SORL1,SPTBN1,SYK,MAP 3K7,TGFBR2,TIAM1,CXCR4,STK24,NCK2,CUL3,TN FSF11,SOCS1,IRS2,RIPK2,MAP3K6,HGS,SH3BP5,RA SGRP1,PSMD14,TRIB1,SPRY1,TLR6,VAV3,COPS8,M AP4K1,AKAP13,DUSP10,TAB2,RASGRP3,WWTR1,P TPN22,STK39,TRIB2,NRBP2,PIK3R4,PRKAG2,SNX9, STK26,TLR9,ERRFI1,VAC14,MAP3K7CL,DUSP22,ZP 4,PROK2,SMYD3,PPP1R18,C5orf44,UBASH3B,ZNF6 22,CAMK2N2,OSBPL8,RASGRP4,IQGAP3,PIK3R6,IL 23R,PAQR3,DAB2IP,SPRED2,CCNY,FNBP1L,PAIP2L3
103	3_Membro GO Processos Biológicos	-6,181387623 -4,067	103,113,284,308,333,339,493,526,528,537 ,610,817,1316,1393,1437,1499,1583,1811,	ADAR,ADCY7,ANGPT1,ANXA5,APLP1,APOBEC1,A TP2B4,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,HCN2,CAM

	GO:1901699 resposta celular a composto nitrogenado	100719	1839,1847,1848,1906,1956,2099,2246,2534,2673,2692,2693,3269,3397,3479,3481,3559,3563,3567,3568,3709,3716,4082,4140,4142,4208,4313,4790,5023,5142,5144,5289,5290,5295,5494,5564,5567,5579,5584,5591,5707,5716,5770,5791,5921,5922,6262,6711,6720,6751,6754,6772,7071,7292,7490,8452,8651,8660,8767,9173,9353,9734,10125,10213,23545,25780,26191,30849,51422,51606,54106,54206,54331,54434,55023,55970,114882,115727,152559,153090,255738,340061	K2D,KLF6,CRHBP,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,SLC26A3,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,ESR1,FGF1,FYN,GAB1,GFPT1,GHRHR,GHSR,HRH1,ID1,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITPR2,JAK1,MARCKS,MARCKS,MAK3,MAS1,MEF2C,MMP2,NFKB1,P2RY11,PDGFB,PDE4D,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKCB,PRKCB,PRKCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTPN1,PTPRE,RASA1,RASA2,RYR2,SPTBN1,SREBF1,SSTR1,SSTR4,STAT1,KLF10,TNFSF4,WT1,CUL3,SOCS1,IRS2,RIPK2,IL3RA1,SLIT2,HDAC9,RASGRP1,PSMD14,A TP6V0A2,RASGRP3,PTPN22,PIK3R4,PRKAG2,ATP6V1H,TLR9,ERRFI1,GNG2,SSH1,PHIP,GNG12,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,PCSK9,TMEM173
104	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0071375 resposta celular a estímulo de hormônio peptídico	-6,0636399093 -3,987 79498	113,284,308,339,526,528,537,817,1393,1437,1499,1583,1839,1847,1848,1906,1956,2246,2534,2549,2673,2692,2693,3269,3479,3481,3559,3563,3567,3568,3716,4082,4140,4142,4790,5289,5290,5295,5494,5564,5567,5579,5584,5591,5707,5716,5770,5791,5921,5922,6711,6720,6751,6754,6772,8452,8651,8660,9734,10125,10213,23545,25780,26191,30849,51422,51606,54106,54206,54331,55023,55970,114882,115727,152559,153090,255738	ADCY7,ANGPT1,ANXA5,APOBEC1,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,CAMK2D,CBLB,CSF2,CTNNB1,CYP11A1,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,FGF1,FYN,GAB1,GFPT1,GHRHR,GHSR,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,JAK1,MARCKS,MARCKS,MAK3,MAS1,NFKB1,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKACB,PRKCB,PRKCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTPN1,PTPRE,RASA1,RASA2,SPTBN1,SREBF1,SSTR1,SSTR4,STAT1,CUL3,SOCS1,IRS2,HDAC9,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A2,RASGRP3,PIK3R4,PRKAG2,ATP6V1H,TLR9,ERRFI1,GNG2,PHIP,GNG12,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,PCSK9
105	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0043410 regulação positiva da cascata de MAPK	-6,0263850114 -3,954 86597	154,238,284,537,817,960,1230,1236,1436,1437,1499,1647,1839,1847,1848,1880,1990,6,1956,2074,2099,2146,2185,2244,2246,2,534,2549,3479,3481,3539,3563,3567,3568,3672,3688,3716,3814,3965,4140,4214,50,63,5707,5716,5728,5770,5921,5922,6346,6504,6711,6754,6846,6850,6885,7074,7477,6,7498,7852,8452,8600,8660,8767,9064,9,290,10125,10213,10333,10550,11184,231,18,25780,26191,28996,54186,56911,3694,0,66675,90441,112464,115727,128239,14,6830,152559,153090,168607,255743,38812,1	ADRB2,ALK,ANGPT1,ATP6AP1,CAMK2D,CD44,CCR1,CCR7,CSF1R,CSF2,CTNNB1,GADD45A,HBEGF,DUSP5,DUSP6,GPR183,EDN1,EGFR,ERCC6,ESR1,EZH2,PTK2B,FGB,FGF1,FYN,GAB1,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITGA1,ITGB1,JAK1,KISS1,LGALS9,MARK3,MAP3K1,PAK3,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPN1,RASA1,RASA2,CCL1,SLAMF1,SPTBN1,SSTR4,XCL2,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,XDH,CXCR4,CUL3,TNFSF11,IRS2,RIPK2,MAP3K6,GPR55,RASGRP1,PSMD14,TLR6,ARL6IP5,MAP4K1,CAB2,RASGRP3,PTPN22,HIPK2,TLR9,MAP3KCCL,DUSP22,PROK2,ZNF622,PRKCDBP,RASGRP4,IQGAP3,PIK3R6,PAQR3,DAB2IP,BMPER,NPNT,TNFAIP8L3
106	3_Membro GO Processos Biológicos	-5,893467503 -3,838	284,817,940,942,1437,1839,1847,1848,1956,2246,2353,2534,2549,3559,3563,3567,	ANGPT1,CAMK2D,CD28,CD86,CSF2,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EGFR,FGF1,FOS,FYN,GAB1,IL2RA,IL3RA,IL	

	GO:0038095 via de sinalização de receptores de Fc-épsilon	53/315	3568,3702,3708,3709,3716,3937,4140,421 4,4772,4773,4790,5290,5295,5707,5716,5 728,5921,5922,6711,6850,6885,8452,8660 ,9402,10125,10213,10451,23118,23239,23 291,25780,50852,79109,115727,152559,1 53090,253260	5,IL5RA,ITK,ITPR1,ITPR2,JAK1,LCP2,MARK3,MAP3 K1,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PIK3CA,PIK3R1,PSMD 1,PSMD10,PTEN,RASA1,RASA2,SPTBN1,SYK,MAP3 K7,CUL3,IRS2,GRAP2,RASGRP1,PSMD14,VAV3,TA B2,PHLPP1,FBXW11,RASGRP3,TRAT1,MAPKAP1,R ASGRP4,PAQR3,DAB2IP,RICTOR
107	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0071774 resposta a fator de crescimento de fibroblastos	-5,805251721 -3,775 56/342	113,284,814,817,860,940,942,968,1437,14 99,1839,1847,1848,1956,1960,2246,2257, 2534,2549,2623,3559,3563,3567,3568,370 8,3709,3716,3975,4140,5137,5290,5295,5 567,5707,5716,5728,5921,5922,6711,7356 ,8452,8569,8660,9982,10125,10213,10252 ,10563,23239,25780,50852,79109,115727, 152559,153090,253260	ADCY7,ANGPT1,CAMK4,CAMK2D,RUNX2,CD28,C D86,CD44,CSF2,CTNNB1,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EG FR,EGR3,FGF1,FGF12,FYN,GAB1,GATA3,IL2RA,IL3 RA,IL5,IL5RA,ITPR1,ITPR2,JAK1,LIFR,MARK3,PD E3C,PIK3CA,PIK3R1,PRKACB,PSMD1,PSMD10,PTE N,RASA1,RASA2,SPTBN1,SCGB1A1,CUL3,MKNK1,I RS2,FGFBP1,RASGRP1,PSMD14,SPRY1,CXCL13,PH LPP1,RASGRP2,TRAT1,MAPKAP1,RASGRP4,PAQR3 ,DAB2IP,RICTOR
108	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0048011 via de sinalização de receptores TRK da neurotrofina	-5,777858008 -3,751 63/402	113,284,814,817,836,940,942,1437,1839,1 846,1847,1848,1956,2246,2534,2549,3559 ,3563,3567,3568,3708,3709,3716,4140,42 08,4790,5137,5290,5295,5367,5584,5707, 5716,5728,5921,5922,6197,6711,7074,733 1,8452,8660,8767,8997,10018,10125,1012 6,10213,10252,10451,11214,23239,25780, 26230,50650,50852,54541,79109,115727, 121512,152559,153090,253260	ADCY7,ANGPT1,CAMK4,CAMK2D,CASP3,CD28,CD 86,CSF2,HBEGF,DUSP4,DUSP5,DUSP6,EGFR,FGF1,F YN,GAB1,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITPR1,ITPR2,JAK 1,MARK3,MEF2C,NFKB1,PDE3C,PIK3CA,PIK3R1,PR KACB,PRKCI,PSMD1,PSMD10,PTEN,RASA1,RASA2 ,RPS6KA3,SPTBN1,TIAM1,YWHAE,CUL3,IRS2,RIPK 2,KALRN,BCL2L11,RASGRP1,DNALA,PSMD14,SPR Y1,VAV3,AKAP13,PHLPP1,RASGRP3,TIAM2,ARHG EF9,TRAT1,DEPTA,MAPKAP1,RASGRP4,FGD4,PAQ R3,DAB2IP,RICTOR
109	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0038093 via de sinalização de receptores de Fc	-5,734873984 -3,734 60/377	284,817,919,940,942,1437,1839,1847,1848 ,1956,2209,2246,2353,2534,2549,3320,3 559,3563,3567,3568,3702,3708,3709,3716 ,3937,4140,4214,4772,4773,4790,5290,52 95,5707,5716,5728,5921,5922,6711,6850, 6885,7456,8452,8660,9402,9844,10125,10 213,10451,23118,23239,23291,23780,269 99,50852,79109,115727,152559,153090,2 53260,338339	ANGPT1,CAMK2D,CD247,CD28,CD86,CSF2,HBEGF, DUSP5,DUSP6,EGFR,FCGR1A,FGF1,FOS,FYN,GAB1 ,HSP90AA1,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITK,ITPR1,ITP R2,JAK1,LCP2,MARK3,MAP3K1,NFATC1,NFATC2, NFKB1,PIK3CA,PIK3R1,PSMD1,PSMD10,PTEN,RAS A1,RASA2,SPTBN1,SYK,MAP3K7,WIPF1,CUL3,IRS2 ,GRAP2,ELMO1,RASGRP1,PSMD14,VAV3,TAB2,PH LPP1,FBXW11,RASGRP3,CYFIP2,TRAT1,MAPKAP1, RASGRP4,PAQR3,DAB2IP,RICTOR,CLEC4D
110	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0043539 regulação da atividade de proteína cinases	-5,728615884 -3,713 114/867	103,113,154,238,284,493,817,836,894,900 ,1030,1236,1435,1436,1437,1647,1839,18 46,1847,1848,1906,1946,1956,2074,2146, 2180,2185,2246,2534,2549,2776,3481,335 9,3563,3567,3568,3672,3716,3937,4057,4 082,4140,4142,4214,5063,5290,5564,5567	ADAR,ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,ATP2B4,CAM K2D,CASP3,CCND2,CCNG1,CDKN2B,CCR7,CSF1,C SF1R,CSF2,GADD45A,HBEGF,DUSP4,DUSP5,DUSP6 ,EDN1,EFNA5,EGFR,ERCC6,EZH2,ACSL1,PTK2B,FG F1,FYN,GAB1,GNAQ,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,I TGA1,JAK1,LCP2,LTF,MARCKS,MARK3,MAS1,MA

111	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0044344 resposta celular a estímulo do fator de crescimento de fibroblastos	-5,709916404 -3,697 55/336	5,569,5707,5716,5728,5770,5795,5912,59 21,5922,6423,6609,6653,6711,6850,6885, 7048,7074,7852,8428,8441,8452,8600,8665 1,8660,8767,9064,9146,9467,10125,10213 ,10221,10252,10333,10920,11384,11214,1 1221,23118,25780,25937,26191,27347,28 951,51422,51429,51765,54106,54206,569 11,56940,57829,60675,64754,84153,8441 7,84959,94032,114882,115727,128239,14 6850,149233,152559,153090,200734,2197 71	P3K1,PAK3,PIK3CA,PRKAB1,PRKACB,PKIA,PSMD1 ,PSMD10,PTEN,PTPN1,PTPRJ,RAP2B,RASA1,RASA2 ,SPRP2,SMPD1,SORL1,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TGFB R2,TIAM1,CXCR4,STK24,NCK2,CUL3,TNFSF11,SOC S1,IRS2,RIPK2,MAP3K6,HGS,SH3BP5,RASGRP1,PS MD14,TRIB1,SPRY1,TLR6,COPS8,MAP4K1,AKAP13, DUSP10,TAB2,RASGRP3,WWTR1,PTPN22,STK39,T RIB2,PRKAG2,SNX9,STK26,TLR9,ERBB4,MAP3K7 CL,DUSP22,ZP4,PROK2,SMYD3,PPP1R1B,C2orf40,U BASH3B,CAMK2N2,OSBPL8,RASGRP4,IQGAP3,PIK 3R6,IL23R,PAQR3,DAB2IP,SPRED2,CCNY
112	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0038179 via de sinalização da neurotrofina	-5,607534,3363 -3,661 63/405	113,284,814,817,836,940,942,1437,1839,1 846,1847,1848,1936,2246,2334,2549,3359 ,3563,3567,3568,3708,3709,3716,4140,42 08,4790,5137,5290,5295,5567,5584,5707, 5716,5728,5921,5922,6197,6711,7074,753 1,8452,8660,8767,8997,10018,10125,1012 6,10213,10252,10451,11214,23239,25780, 26230,50650,50852,54541,79109,115727, 121812,152559,153090,253260	ADCY7,ANGPT1,CAMK4,CAMK2D,CASP3,CD28,CD 86,CSF2,HBEGF,DUSP4,DUSP5,DUSP6,EGFR,FGF1,F YN,GAB1,IL2RA,IL3RA,IL5RA,ITPR1,ITPR2,JAK 1,MARK3,MEF2C,NFKB1,PDE1C,PIK3CA,PIK3R1,PR KACB,PRKCI,PSMD1,PSMD10,PTEN,RASA1,RASA2 ,RPS6KA3,SPTBN1,TIAM1,YWHAE,CUL3,IRS2,RIPK 2,KALRN,BCL2L11,RASGRP1,DNAL4,PSMD14,SPR Y1,VAV3,AKAP13,PHLPP1,RASGRP3,TIAM2,ARHG EF3,TRAF1,DDIT4,MAPKAP1,RASGRP4,FGD4,PAQ R3,DAB2IP,RICTOR
113	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0048010 via de sinalização de receptores do fator de crescimento vascular endotelial	-5,648344345 -3,645 50/296	284,558,817,1437,1536,1839,1847,1848,1 956,2185,2246,2296,2534,3320,3559,3563 ,3567,3568,3708,3709,3716,4140,5063,52 90,5295,5579,5707,5716,5770,5921,5922, 6461,6711,7424,8440,8452,8660,8828,984 4,10125,10213,10451,25780,26309,26900, 79109,115727,152559,153090,253260	ANGPT1,AXL,CAMK2D,CSF2,CYBB,HBEGF,DUSP5, DUSP6,EGFR,PTK2B,FGF1,FOXC1,FYN,HSP90AA1,I L2RA,IL3RA,IL5RA,ITPR1,ITPR2,JAK1,MARK3, PAK3,PIK3CA,PIK3R1,PRKCB,PSMD1,PSMD10,PTP N1,RASA1,RASA2,SHB,SPTBN1,VEGFC,NCK2,CUL 3,IRS2,NRP2,ELMO1,RASGRP1,PSMD14,VAV3,RAS GRP3,MYOF,CYTIP2,MAPKAP1,RASGRP4,PAQR3,D AB2IP,RICTOR
114	3_Membro GO Processos Biológicos	-5,611458231 -3,619	284,339,526,528,537,817,1407,1437,1839, 1847,1848,1936,1959,2246,2534,2549,267	ANGPT1,APOBEC1,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1 ,CAMK2D,CRY1,CSF2,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EGFR,

	GO:0032868 resposta à insulina	68/430	3,2692,2693,3033,3479,3481,3559,3563,3 567,3568,3716,4082,4140,4435,5289,5290 ,5295,5494,5564,5579,5584,5591,5707,57 16,5770,5791,5921,5922,6711,6720,7352, 8452,8631,8660,9734,10125,10213,23545, 25780,30849,51141,51422,51606,54106,5 4206,55023,56729,114882,115727,132559 ,153090,255738	EGR2,FGF1,FYN,GAB1,GPI,GHRHR,GHSR,HADH ,IGF1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,JAK1,MARCKS, MARK3,CTED1,PIK3C3,PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PR KAB1,PRKCB,PRKCI,PRKDC,PSMD1,PSMD10,PTPN 1,PTPRE,RASA1,RASA2,SPTBN1,SREBF1,UCP3,CUL 3,SOCS1,IRS2,HDAC9,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A 2,RASGRP3,PIK3R4,INSIG2,PRKAG2,ATP6V1H,TLR 9,ERRFI1,PHIP,RETN,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DA B2IP,PCSK9
115	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0038127 via de sinalização de ERBB	-5,3380206633 -3,381 58/371	113,284,356,374,814,817,940,942,1437,18 39,1847,1848,1956,2060,2099,2185,2246, 2334,2549,3516,3559,3563,3567,3568,3667 2,3708,3709,3716,4148,4653,5137,5290,5 295,5567,5641,5707,5716,5728,5795,5921 ,5922,6711,8440,8452,8660,9146,10125,1 0213,10252,23239,25780,50852,54306,79 189,115727,132559,153090,253260	ADCY7,ANGPT1,FASLG,AREG,CAMK4,CAMK2D,C D28,CD86,CSF2,HBEGF,IDUSP5,DUSP6,EGFR,EPS15, ESR1,PTK2B,FGF2,FYN,GAB1,IRBP1,IL2RA,IL3RA,I L5,IL5RA,ITGA1,ITPR1,ITPR2,JAK1,MARK3,MYOC, PDE1C,PIK3CA,PIK3R1,PRKACB1,GMN,PSMD1,PS MD10,PTEN,PTPRJ,RASA1,RASA2,SPTBN1,NCK2,C UL3,IRS2,HGS,RASGRP1,PSMD14,SPRY1,PHLPP1,R ASGRP3,TRAF1,ERBB3,MAPKAP1,RASGRP4,PAQR 3,DAB2IP,RICTOR
116	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0008543 via de sinalização de receptores do fator de crescimento de fibroblastos	-5,2437946665 -3,394 51/314	113,284,814,817,860,940,942,1437,1499,1 839,1847,1848,1956,2246,2257,2334,2549 ,2625,3559,3563,3567,3568,3708,3709,37 16,4140,5137,5290,5295,5567,5707,5716, 5728,5921,5922,6711,8452,8569,8660,9998 ,10125,10213,10252,23239,25780,50852, 79189,115727,132559,153090,253260	ADCY7,ANGPT1,CAMK4,CAMK2D,RUNX2,CD28,C D86,CSF2,CTNNB1,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EGFR,FG F1,FGF2,FYN,GAB1,GATA3,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5R A,ITPR1,ITPR2,JAK1,MARK3,PDE1C,PIK3CA,PIK3R 1,PRKACB,PSMD1,PSMD10,PTEN,RASA1,RASA2,SP TBN1,CUL3,MKNK1,IRS2,FGFBP1,RASGRP1,PSMD 14,SPRY1,PHLPP1,RASGRP3,CRAT1,MAPKAP1,RAS GRP4,PAQR3,DAB2IP,RICTOR
117	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0071900 regulação da atividade de proteína serina/treonina cinases	-5,232767718 -3,286 84/606	238,284,493,817,836,894,960,1030,1436,1 437,1647,1839,1846,1847,1848,1906,1956 ,2074,2146,2180,2185,2246,2534,2549,34 81,3559,3563,3567,3568,3672,3716,4057, 4082,4140,4142,4214,5063,5569,5707,571 6,5728,5770,5795,5921,5922,6423,6609,6 653,6711,6850,6885,7074,7852,8452,8600 ,8660,8767,9064,9146,10125,10213,10221 ,10252,10333,10920,11184,11221,23118,2 3780,26191,28953,51422,54106,56911,58 940,60675,84417,115727,128239,146850, 152559,153090,200734,219771	ALK,ANGPT1,ATP2B4,CAMK2D,CASP3,CCND2,CC NG1,CDKN2B,CSF1R,CSF2,GADD45A,HBEGF,DUSP 4,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,ERCC6,EZH2,ACSL1,P TK2B,FGF1,FYN,GAB1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5R A,ITGA1,JAK1,LTF,MARCKS,MARK3,MAS1,MAP3 K1,PAK3,PKIA,PSMD1,PSMD10,PTEN,PTPN1,PTPRJ ,RASA1,RASA2,SFRP2,SMPD1,SORL1,SPTBN1,SYK, MAP3K7,TIAM1,CXCR4,CUL3,TNFSF11,IRS2,RIPK2 ,MAP3K6,HGS,RASGRP1,PSMD14,TRIB1,SPRY1,IL R6,COPS8,MAP4K1,DUSP10,TAB2,RASGRP3,PTPN2 ,TRIB2,PRKAG2,TLR9,MAP3K7CL,DUSP22,PROK2, C2orf40,RASGRP4,IQGAP3,PIK3R6,PAQR3,DAB2IP, SPRED2,CCNY
118	3_Membro	-5,227915078	284,339,526,528,537,817,1437,1839,1847,	ANGPT1,APOBEC3,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1

	GO Processos Biológicos GO:0032869 resposta celular a estímulo de insulina	-3,283 617408	1848,1956,2246,2534,2549,2673,2692,269 3,3479,3481,3559,3563,3567,3568,3716,4 082,4140,5289,5290,5295,5494,5564,5579 ,5584,5591,5707,5716,5770,5791,5921,59 22,6711,6720,8452,8651,8660,8734,10125 ,10213,23545,25780,30849,31422,51606,5 4106,54206,55023,114882,115727,152559 ,153090,255738	CAMK2D,CSF2,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EGFR,FGF1, FYN,GAB1,GPT1,GHRHR,GHSR,IGF1R,IGF2,IL2RA,I L3RA,IL5,IL5RA,JAK1,MARCKS,MARK3,PIK3C2,PI K3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKCB,PRKCI,PRK DC,PSMD1,PSMD10,PTPN1,PTPRE,RASA1,RASA2,S PTBN1,SREBF1,CUL3,SOCS1,IRS2,HDAC9,RASGRP 1,PSMD14,ATP6V0A2,RASGRP3,PIK3R4,PRKAG2,A TP6V1H,TLR9,ERRFI1,PHIP,OSBPL8,RASGRP4,PAQ R3,DAB2IP,PCSK9
119	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0033674 regulação positiva da atividade de cinases	-4,9225 51968 -3,028 866136	113,154,238,284,493,817,894,1236,1435,1 436,1437,1647,1839,1847,1848,1906,1946 ,1956,2074,2146,2180,2185,2246,2534,25 49,3481,3559,3563,3567,3568,3672,3716, 3937,4057,4082,4140,4142,4214,5063,529 0,5567,5707,5716,5770,5921,5922,6711,6 850,6885,7048,7074,7852,8428,8452,8600 ,8631,8660,8767,9064,10125,10213,10333 ,10451,10920,11184,23118,25780,27347,3 0849,31422,51429,51763,54106,56911,57 829,60675,90441,114882,115727,128239, 146850,149233,152559,153090,219771,38 8121	ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,ATP2B4,CAMK2D,CC ND2,CCR7,CSF1,CSF1R,CSF2,GADD45A,HBEGF,DU SP5,DUSP6,EDN1,EFNA5,EGFR,ERCC6,EZH2,ACSL 1,PTK2B,FGF1,FYN,GAB1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL 5RA,ITGA1,JAK1,LCP2,LTF,MARCKS,MARK3,MAS 1,MAP3K1,PAK3,PIK3CA,PRKACB,PSMD1,PSMD10, PTPN1,RASA1,RASA2,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TGFB R2,TIAM1,CXCR4,STK24,CUL3,TNFSF11,SOCS1,IRS 2,RIPK2,MAP3K6,RASGRP1,PSMD14,TLR6,VAV3,C OPS8,MAP4K1,TAB2,RASGRP3,STK39,PIK3R4,PRK AG2,SNX9,STK26,TLR9,MAP3K7CL,ZP4,PEOK2,ZN F622,OSBPL8,RASGRP4,IQGAP3,PIK3R6,IL23R,PAQ R3,DAB2IP,CCNY,TNFAIP8L2
120	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0043405 regulação da atividade de MAP cinases	-3,8690 43802 -2,988 677464	238,284,817,1437,1647,1839,1846,1847,1 848,1906,1956,2074,2146,2185,2246,2534 ,2549,3559,3563,3567,3568,3672,3716,41 40,4214,5063,5707,5716,5770,5795,5921, 5922,6423,6609,6653,6711,6850,6885,7077 ,7852,8452,8600,8660,8767,9064,91446,1 0125,10213,10222,10252,10333,11184,11 221,23118,25780,26191,28951,54106,569 11,56940,60675,115727,128239,146850,1 52559,153090,210734	ALK,ANGPT1,CAMK2D,CSF2,GADD45A,HBEGF,D USP4,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,ERCC6,EZH2,PTK 2B,FGF1,FYN,GAB1,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITGA1, JAK1,MARK3,MAP3K1,PAK3,PSMD1,PSMD10,PTPN 1,PTPRJ,RASA1,RASA2,SFRP2,SMPD1,SORL1,SPTB N1,SYK,MAP3K7,TIAM1,CXCR4,CUL3,TNFSF11,IRS 2,RIPK2,MAP3K6,HGS,RASGRP1,PSMD14,TRIB1,SP RY1,TLR6,MAP4K1,DUSP10,TAB2,RASGRP3,PTPN2 2,TRIB2,TLR9,MAP3K7CL,ZP3,SPP2,PEOK2,RASGRP 4,IQGAP3,PIK3R6,PAQR3,DAB2IP,SPRED2
121	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0007411 guia de axônios	-4,7376 364492 -2,890 79578	27,284,286,287,288,323,817,1293,1436,14 37,1759,1808,1839,1847,1848,1946,1956, 1959,2246,2534,2596,2625,2668,3320,355 9,3563,3567,3568,3672,3673,3680,3688,3 716,3786,3800,3975,3983,4140,4313,4897 ,5063,5707,5716,5800,5921,5922,6197,63 83,6711,7074,7903,8440,8452,8689,8850, 8660,8828,8997,9353,9369,9835,10125,10	ABL2,ANGPT1,ANK1,ANK2,ANK3,APBB2,CAMK2D ,COL6A3,CSF1R,CSF2,DNM1,DPYSL2,HBEGF,DUSP 5,DUSP6,EFNA5,EGFR,EGR2,FGF1,FYN,GAP43,GAT A3,GDNF,HSP90AA1,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITGA 1,ITGA2,ITGA9,ITGB1,JAK1,KCNQ3,KIFSC1,HX1,A BLIM1,MARK3,MMP2,NRCAM,PAK3,PSMD1,PSMD 10,PTPRO,RASA1,RASA2,RPS6KA3,SDC2,SPTBN1,T IAM1,STBSIA4,NCK2,CUL3,KLF7,NUMB,IRS2,NRP2

			154,10213,10451,10487,10507,22885,231 22,23396,25780,55079,57556,64218,1039 10,115727,152359,153090,404470	KALRN,SLIT2,NRXN3,FARP2,RASGRP1,PLXNC1,P SMD14,VAV3,CAP1,SEMA4D,ABLIM3,CLASP2,PIP5 K1C,RASGRP3,FEZF2,SEMA6A,SEMA4A,MYL12B,R ASGRP4,PAQR3,DAB2IP,RNF165
122	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0097485 guia da projeção de neurônios	-4,737636492 -2,890 79578	27,284,286,287,288,323,817,1293,1436,14 37,1759,1808,1839,1847,1848,1946,1956, 1959,2246,2534,2596,2623,2668,3320,355 9,3563,3567,3568,3672,3673,3680,3688,3 716,3786,3800,3975,3983,4140,4313,4897 ,5063,5707,5716,5800,5921,5922,6197,63 83,6711,7074,7903,8440,8452,8609,8650, 8660,8828,8997,9353,9369,9855,10125,10 154,10213,10451,10487,10507,22885,231 22,23396,25780,55079,57556,64218,1039 10,115727,152359,153090,404470	ABL2,ANGPT1,ANK1,ANK2,ANK3,APBB2,CAMK2D ,COL6A3,CSF1R,CSF2,DNM1,DPYSL2,HBEGF,DUSP 5,DUSP6,EPNA5,EGFR,EGR2,FGF1,FYN,GAP43,GAT A3,GDNF,HSP90AA1,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITGA 1,ITGA2,ITGA9,ITGB1,JAK1,KCNQ3,KIF5C,LHX1,A BLIM1,MARK3,MMP2,NRCAM,PAK3,PSMD4,PSMD 10,PTPRO,RASA1,RASA2,RPS6KA3,SDC2,SPTBN1,T IAM1,ST8SIA4,NCK2,CUL3,KLF7,NUMB,IRS2,NRP2 ,KALRN,SLIT2,NRXN3,FARP2,RASGRP1,PLXNC1,P SMD14,VAV3,CAP1,SEMA4D,ABLIM3,CLASP2,PIP5 K1C,RASGRP3,FEZF2,SEMA6A,SEMA4A,MYL12B,R ASGRP4,PAQR3,DAB2IP,RNF165
123	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0007173 via de sinalização de receptores do fator de crescimento epidérmico	-4,602140781 -2,830 55364	113,284,356,374,814,817,940,942,1437,18 39,1847,1848,1956,2060,2099,2185,2246, 2534,2549,3559,3563,3567,3568,3672,370 8,3709,3716,4140,5137,5290,5295,5567,5 707,5716,5728,5795,5921,5922,6711,8440 ,8452,8660,9146,10125,10213,10252,2323 9,25780,30852,54206,79109,115727,1525 59,153090,253260	ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,ATP2B4,CAMK2D,CC ND2,CCR7,CSF1,CSF1R,CSF2,GADD45A,HBEGF,DU SP5,DUSP6,EDN1,EFNA5,EGFR,ERCC6,EZH2,ACSL 1,FTK2B,FGF1,FYN,GAB1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL 5RA,ITGA1,JAK1,LCP2,LTF,MARCKS,MARK3,MAS 1,MAP3K1,PAK3,PIK3CA,PRKACB,PSMD1,PSMD10, PTPN1,RASA1,RASA2,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TGFB R2,TIAM1,CXCR4,STK24,CUL3,TNFSF11,SOCS1,IRS 2,IKPC2,MAP3K6,RASGRP1,PSMD14,TLR6,COPS8, MAP4K1,TAB2,RASGRP3,STK39,PRKAG2,SNX9,ST K26,TLR9,MAP3K7CL,ZP4,PIK3R2,OSBPL8,RASGRP 4,IQGAP3,FIK3R6,IL23R,PAQR3,DAB2IP,CCNY
124	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0043560 regulação positiva da atividade de proteína cinases	-4,629446492 -2,801 82610	113,154,238,284,493,817,894,1236,1435,1 436,1437,1647,1839,1847,1848,1906,1946 ,1956,2074,2146,2180,2185,2246,2534,25 49,3481,3559,3563,3567,3568,3672,3716, 3937,4057,4082,4140,4142,4214,5063,529 0,5567,5707,5716,5770,5921,5922,6711,8 850,6885,7048,7074,7852,8428,8432,8600 ,8651,8660,8767,9064,10125,10213,10233,10333 ,10920,11184,23118,25780,27347,51422,5 1429,51765,54206,56911,57829,60675,11 4882,115727,128239,146850,149233,1525 59,153090,219771	ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,ATP2B4,CAMK2D,CC ND2,CCR7,CSF1,CSF1R,CSF2,GADD45A,HBEGF,DU SP5,DUSP6,EDN1,EFNA5,EGFR,ERCC6,EZH2,ACSL 1,FTK2B,FGF1,FYN,GAB1,IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL 5RA,ITGA1,JAK1,LCP2,LTF,MARCKS,MARK3,MAS 1,MAP3K1,PAK3,PIK3CA,PRKACB,PSMD1,PSMD10, PTPN1,RASA1,RASA2,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TGFB R2,TIAM1,CXCR4,STK24,CUL3,TNFSF11,SOCS1,IRS 2,IKPC2,MAP3K6,RASGRP1,PSMD14,TLR6,COPS8, MAP4K1,TAB2,RASGRP3,STK39,PRKAG2,SNX9,ST K26,TLR9,MAP3K7CL,ZP4,PIK3R2,OSBPL8,RASGRP 4,IQGAP3,FIK3R6,IL23R,PAQR3,DAB2IP,CCNY
125	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0006286 via de sinalização do	-4,102236617 -2,427 50334	284,326,528,537,817,1437,1839,1847,184 8,1956,2246,2534,2549,3481,3559,3563,3 567,3568,3716,4140,5289,5290,5295,5494 ,5564,5579,5707,5716,5770,5791,5921,59	ANGPT1,ATP6V1B2,ATP6V1C1,ATP6AP1,CAMK2D, CSF2,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EGFR,FGF1,FYN,GAB1, IGF2,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,JAK1,MARK3,PIK3C3, PIK3CA,PIK3R1,PPM1A,PRKAB1,PRKCB,PSMD1,PS

	receptor da insulina		22,6711,67220,84452,8651,8660,10125,10213,3,23545,25780,30849,51422,51606,54106,59023,114882,115727,152559,153090	MD10,PTPN1,PTPRE,RASA1,RASA2,SPTBN1,SREBF1,CUL3,SOCS1,IRS2,RASGRP1,PSMD14,ATP6V0A2,RASGRP3,PIK3R4,PRKAG2,ATP6V1H,TLR9,PHIP,OSBPL8,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP	
126	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0032147 ativação da atividade de proteína cinases	-4,1290669404 -2,379 64/462	113,154,238,284,817,1437,1647,1839,1847,1848,1946,1956,2074,2185,2246,2534,2542,3559,3563,3567,3568,3672,3716,4140,4142,4214,5063,5290,5367,5707,5716,5721,5922,6711,6850,6883,7048,7862,8428,8452,8600,8651,8660,8767,9064,10125,10213,10333,10920,11184,23118,25781,27347,51422,51765,56911,60675,111488,115727,128239,149233,152559,153090	ADCY7,ADRB2,ALK,ANGPT1,CAMK2D,CSF2,GADD45A,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EFNA5,EGFR,ERCC6,PTK2B,FGF1,FYN,GAB1,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,ITGA1,JAK1,MARK3,MAS1,MAP3K1,PAK3,PIK3CA,PRKACB,PSMD1,PSMD10,PTPN1,RASA1,RASA2,SPTBN1,SF11,SOCS1,IRS2,RIPK2,MAP3K6,RASGRP1,PSMD14,TLR6,COPS8,MAP4K1,TAB2,RASGRP3,STK39,PRKAG2,STK26,MAP3K7CL,PRKCK2,OSBPL8,RASGRP4,IQGAP3,IL23R,PAQR3,DAB2IP	
127	3_Membro GO Processos Biológicos GO:0000186 ativação da atividade de MAPK	-2,547037601 -1,167 33/234	284,817,1437,1839,1847,1848,1956,2074,2246,2534,3559,3563,3567,3568,3716,4142,4214,5707,5716,5921,5922,6711,6883,8452,8660,9064,10125,10213,25780,56911,115727,152559,153090	ANGPT1,CAMK2D,CSF2,HBEGF,DUSP5,DUSP6,EGFR,ERCC6,FGF1,FYN,IL2RA,IL3RA,IL5,IL5RA,JAK1,MARK3,MAP3K1,PSMD1,PSMD10,RASA1,RASA2,PTBN1,MAP3K7,CUL3,IRS2,MAP3K6,RASGRP1,PSMD14,RASGRP3,MAP3KCL,RASGRP4,PAQR3,DAB2IP	
128	4_Resumo GO Processos Biológicos GO:0022603 regulação da morfogênese de estruturas anatômicas	-9,489385207 -6,812 137/944	81,154,301,335,356,596,604,753,832,860,861,989,1232,1435,1436,1499,1540,1690,1808,1848,1906,1946,2078,2099,2113,2146,2185,2244,2246,2296,2335,2534,2625,2668,2768,2803,3037,3074,3397,3458,3516,3557,3716,3975,3987,4082,4092,4208,4289,4330,4433,4478,4653,4773,4897,4920,5054,5063,5579,5728,5734,5740,5789,5801,5921,5962,6239,6383,6423,6446,6480,6672,6772,6860,7048,7074,7421,7424,7456,7476,7490,7498,7849,8650,8994,9313,9353,9734,10154,10252,10395,10587,10863,10672,10801,10810,23002,23122,23136,23216,23327,23499,25937,26037,27086,27886,28996,30812,51250,54434,54708,55023,55079,55223,55843,56900,57194,57533,57535,60675,64218,64411,79734,85407,85464,90627,91663,92140,100910,123512,128237,146850,153090,157922,161176,201164,283149,343472,27,322,463,537,558,639,6	ACTN4,ADRB2,ANXA1,APOA1,FAS,LGALS,BCL2,BCL6,LDLRAD4,CAPZB,RUNX2,RUNX1,SEPT7,CCR3,CSF1,CSF1R,CTNNB1,CYLD,COCH,DPYSL2,DUSP6,EDN1,EFNA5,ERG,ESR1,EFS1,EZH2,PTK2B,FGB,FGF1,FOXC1,FN1,FYN,GATA3,GDNF,GNA12,GOLGA4,HOXA2,HEXB,ID1,IFNG,RBPJL,IRN,JAK1,LHX1,LIMS1,MARCKS,SMAD7,MEF2C,MSX1,N1,MLLT3,CITED1,MSN,MYOC,NFATC2,NRCAM,ROBO2,SERPINE1,PAK3,PRKCB,PTEN,PTGER4,PTCIS,PTPRD,PTPRO,RASA1,RDX,RREB1,SDC2,SFRP2,SGK1,STC2,STC2,STAT1,SYT4,TGFBR2,TIAM,VDR,VEGFC,WIPF1,WNT7A,WT1,XDH,PAX8,NUMB,LIMD1,MMP20,SLIT2,HDAC9,PLXNC1,SPRY1,DLC1,SEMA4D,CXCL12,GNA13,SEPT9,WASF3,DAAM1,CLASP2,EPB41L3,TBC1D1,NEDD4L,MACF1,WWTR1,SPA1L1,FOXP1,HIPK2,SOX8,TBC1D7,SSH1,MARCH5,PHIP,FEZF2,TRIM62,ARHGAP15,CDC42SE2,ATP1OA,TBC1D14,SEMA6A,PROK2,SEMA4A,ARAP3,KCTD17,NKD1,SSH2,STARD13,MYADM,MTDH,MYL12B,FGD4,ARHGEF19,PIK3R6,DAB2IP,CAMSAP1,SYNE3,PLD6,BCL9L,	

			88,841,942,1230,1240,1437,1960,2353,26 97,3479,3559,3567,3575,3592,3596,3600, 3624,3635,3642,3688,3965,4000,4037,448 8,4602,4674,4790,5584,6197,6660,6850,6 925,7071,7292,7520,7704,7852,8111,8320 ,8600,8626,8648,8767,9308,10125,10221, 10362,55714,59904,79025,83477,114548, 115825,140233,255743,285990	BARHL2,ABL2,APBB1,ZFHX3,ATP6AP1,AXL,PRDM 1,KLF3,CASP8,CD86,CCR1,CMKLR1,CSF2,EGR3,FO S,GJA1,IGF1,IL2RA,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INHB A,INPP5D,INSM1,ITGB1,LGALS9,LMNA,LTF,MSX2, MYB,NAPIL2,NFKB1,PRKCI,RPS6KA3,SOX5,SYK,T CF4,KLF10,TNFSF4,XRCC5,ZBTB16,CXCR4,GPR68, EOMES,TNFSF11,TP63,NCOA1,RIPK2,CD83,RASGR P1,TRIB1,HMGB2B,TENM3,KMT2E,NDNF,SCIN,NL RP3,WDFY2,IL23R,NPNT,SHPXD2B
129	4_Membro GO Processos Biológicos GO:0022603 regulação da morfogênese de estruturas anatômicas	-9,489585207 -6,812 1377944	81,154,301,335,356,596,614,753,832,860, 861,989,1232,1435,1436,1499,1540,1690, 1808,1848,1906,1946,2078,2089,2113,214 6,2185,2244,2246,2296,2335,2534,2625,2 668,2768,2803,3037,3074,3397,3458,3516 ,3557,3716,3975,3987,4082,4092,4208,42 89,4300,4435,4478,4653,4773,4897,4920, 5054,5063,5579,5728,5734,5740,5789,580 0,5921,5962,6239,6383,6423,6446,6480,6 672,6772,6860,7048,7074,7421,7424,7456 ,7476,7490,7498,7849,8650,8994,9313,93 53,9734,10154,10252,10395,10507,10563, 10672,10801,10810,23002,23122,23136,2 3216,23327,23499,25937,26037,27086,28 986,30812,51256,54434,54708,55023,550 79,55223,55843,56990,57194,57533,5755 6,60675,64218,64411,79734,85407,85464, 90627,91663,92140,103910,121512,12827 2,146850,153090,157922,161176,201164, 283448,343472	ACTN4,ADRB2,ANXA1,APOA1,FAS1,G,BCL2,BCL6, LDLRAD4,CAPZB,RUNX2,RUNX1,SEPT7,CCR3,CSF 1,CSF1R,CTNNB1,CYLD,COCH,DPYSL2,DUSP6,ED N1,EFNA5,ENG,ESR1,ETS1,EZH2,FTKZB,FGB,FGF1, FOXC1,FN1,FYN,GATA3,GDNF,GNA12,GOLGA4,H AS2,HEXB,ID1,IFNG,RBPJL,IRN,JAK1,LHX1,LIMS 1,MARCKS,SMAD7,MEF2C,MKLN1,MLLT3,CTED1, MSN,MYOC,NFATC2,NRCAM,ROR2,SERPINB1,PA K3,PRKCB,PTEN,PTGER4,PTGES,PTPRD,PTPROJRA SA1,RDX,RREB1,SDC2,SFRP2,SGK1,ST6GAL1,SP10 0,STAT1,SYT4,TGFBR2,TIAM1,VDR,VEGFC,WIPF1, WNT7A,WT1,NDH,PAX8,NEMB,LIMD1,MMP20,SLI T2,HDAC9,PLXNC1,SPRY1,DLC1,SEMA4D,CXCL13, GNA13,SEPT9,WASF3,DAAM1,C1,ASP2,EPB41L3,TB C1D1,NEDD4L,MACF1,WWTR1,SIPA1L3,FOXP1,HI PK2,SOX8,TBC1D7,SSH1,MARCH5,PHIP,FEZF2,TRI M62,ARHGAP15,CDC42SE2,ATP10A,TBC1D14,SEM A6A,PROK2,SEMA4A,ARAP3,KCTD17,NKD1,SSH2, STARD13,MYADM,MTDH,MYL12B,FGD4,ARHGEF 19,PIK3R6,DAB2IP,CAMSAP1,SYNE2,PLD6,BCL9L, BARHL2
130	4_Membro GO Processos Biológicos GO:0022604 regulação da morfogênese celular	-8,199851626 -5,1694 860537	81,301,335,753,832,989,1436,1499,1540,1 690,1808,1946,2146,2185,2244,2335,2534 ,2668,2768,2803,3037,3074,3397,3987,40 82,4092,4289,4435,4478,4653,4897,5063, 5728,5789,5800,5921,5962,6239,6383,6423 3,6446,6480,6772,6860,7048,7074,7456,7 476,7849,8994,9353,10154,10395,10507,1 0672,10801,10810,23122,23136,23216,23 327,23499,25937,26037,51256,54434,550 23,55079,55223,55843,56990,57194,5753	ACTN4,ANXA1,APOA1,LDLRAD4,CAPZB,SEPT7,CS F1R,CTNNB1,CYLD,COCH,DPYSL2,EFNA5,EZH2,P TK2B,FGB,FN1,FYN,GDNF,GNA12,GOLGA4,HAS2, HEXB,ID1,LIMS1,MARCKS,SMAD7,MKLN1,CTED1 ,MSN,MYOC,NRCAM,PAK3,PTEN,PTPRD,PTPROJR ASA1,RDX,RREB1,SDC2,SFRP2,SGK1,ST6GAL1,ST AT1,SYT4,TGFBR2,TIAM1,WEF1,WNT7A,PAX8,LI MD1,SLIT2,PLXNC1,DLC1,SEMA4D,GNA13,SEPT9, WASF3,C1,ASP2,EPB41L3,TBC1D1,NEDD4L,MACF1 ,WWTR1,SIPA1L1,TBC1D7,SSH1,PHIP,FEZF2,TRIM6

			3,57556,64218,64411,79734,85464,91663,103910,121512,153090,157922,161176,283149,343472	2,ARHGAP15,CDC42SE2,ATP10A,TBC1D14,SEMA6A,SEMA4A,ARAP3,KCTD17,SH2,MYADM,MYL12B,FGD4,DAB2IP,CAMSAP1,SYNE3,BCL9L,BARHL2
131	4_Membro GO Processos Biológicos GO:0043597 regulação positiva da diferenciação celular	-7,934382345 -5,537 118823	27,301,322,335,463,537,558,596,604,639,688,841,860,861,942,1230,1240,1435,1436,1437,1499,1906,1946,1960,2113,2146,2244,2296,2335,2353,2534,2625,2668,2697,2803,3037,3458,3479,3516,3559,3567,3575,3592,3596,3608,3624,3635,3642,3688,3965,3975,3987,4000,4057,4082,4208,4488,4602,4653,4674,4773,4790,4897,5063,5584,5734,5789,6197,6239,6423,6446,6660,6850,6860,6925,7048,7071,7074,7292,7421,7424,7520,7704,7849,7852,8111,8320,8600,8626,8648,8650,8767,9308,9335,10123,10221,10362,10507,23327,23499,25937,30812,35079,35714,53004,57336,79625,85477,91663,114548,118823,146850,149233,153090,235743,283149,285590	ABL2,ANXA1,APBB1,APOA1,ZFHX3,ATP6AP1,AXL,BCL2,BCL6,PRDM1,KLF5,CASP8,RUNX2,RUNX1,CD86,CCR1,CM6A1,CSF1,CSF1R,CSF2,CTNNB1,EDN1,EFNA3,EGR3,ETS1,EZH2,PTK2B,FGB,FOXC1,FN1,FOS,FYN,GATA3,GDNF,GJA1,GOLGA4,HAS2,IFN G,IGF1,RBPJL,IRAK1,IL5,IL7R,IL12A,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,INSM1,ITGB1,LGALS9,LHX1,LIMS1,LMN A,LTF,MARCKS,MEF2C,MSX2,MYB,MYOC,NAP1L2,NFATC2,NFKB1,NRCAM,PAK3,PRKC1,PTGER4,PTPRD,RPS6KA3,RREB1,SFRP2,SGK1,SOX5,SYK,SYT4,TCF4,TGFBR2,KLF10,TIAM1,TNFSF4,VDR,VEGFC,XRCC5,ZBTB16,PAX8,CXCR4,GPR68,EOMES,TNFS F11,TP63,NCOA1,NUMB,EPK2,CD83,SLIT2,RASGR P1,TRIB1,HMG20B,SEMA4D,NEDD4L,MACF1,WWT R1,SOX8,FEZF2,TENM3,KMT2E,SEMA6A,NDNF,SCN,MYADM,NLRP3,WDFY2,PIK3R6,IL23R,DAB2IP,NPNT,BCL9L,SH3PXD2B
132	4_Membro GO Processos Biológicos GO:0010769 regulação da morfogênese celular envolvida em diferenciação	-4,092337149 -2,354 80337	81,335,753,1499,1808,1946,2146,2244,2335,2668,2803,3037,3397,3987,4082,4092,4435,4653,4897,5063,5728,5789,5800,6239,6423,6446,6480,6772,7048,7074,7476,7849,8353,10154,10507,23122,23499,25937,26037,54434,55079,55223,57556,64218,85464,91663,153090,283149,343472	ACTN4,APOA1,LDLRAD4,CTNNB1,DPYSL2,EFNA5,EZH2,FGB,FN1,GDNF,GOLGA4,HAS2,ID1,LIMS1,MARCKS,SMAD7,CITED1,MYOC,NRCAM,PAK3,PTPRD,PTPRO,RREB1,SDC2,SFRP2,SGK1,ST6GAL1,STAT1,TGFBR2,TIAM1,WNT7A,PAX8,SLIT2,PLXNC1,SEMA4D,CLASP2,MACF1,WWTR1,SIPA1L1,SSH1,FEZF2,TRIM62,SEMA6A,SEMA4A,SSH2,MYADM,DAB2IP,BCL9L,BARHL2
133	4_Membro GO Processos Biológicos GO:0010770 regulação positiva da morfogênese celular envolvida em diferenciação	-2,577632355 -1,188 25/162	335,1499,1946,2146,2244,2335,2668,2803,3037,3987,4082,4653,5063,5789,6239,6423,6446,7048,7074,7849,9353,10507,23499,25937,91663,283149	APOA1,CTNNB1,EFNA5,EZH2,FGB,FN1,GDNF,GOLGA4,HAS2,LIMS1,MARCKS,MYOC,PAK3,PTPRD,RREB1,SGK1,TGFBR2,TIAM1,PAX8,SLIT2,SEMA4D,MACF1,WWTR1,MYADM,BCL9L
134	5_Resume Conjuntos de Genes Hallmark M5890 HALLMARK SINALIZAÇÃO DE TNFA ATRAVÉS DE	-9,445831062 -6,788 46/200	329,330,374,597,804,960,1316,1435,1437,1647,1839,1846,1847,1880,1906,1959,1982,2233,3375,3624,4082,4783,4790,5054,5055,5142,5734,5791,6446,6648,7071,7897,8061,8553,8660,8767,8848,8870,9308,10	BIRC2,BIRC3,AREG,BCL2A1,BCL6,CD44,KLF6,CSF1,CSF2,GADD45A,HBEGF,DUSP4,DUSP5,GPR183,DNT1,EGR2,EGR3,FOS,IL7R,INHBA,MARCKS,NFIL3,NFKB1,SERPINE1,SERPINB2,PDE4B,PTGER4,PTPR E,SGK1,SOD2,KLF10,TLR2,FOSL1,BHLHE40,IRS2,R

	NFKB		010,10223,23258,25816,25976,51278,569 37,558,1236,1240,1536,3037,3269,3554,3 600,3759,3937,4693,5730,5996,6304,6506 ,8671,8743,8807,9433,10125,10507,60675 ,114548,166939	IPK2,FSCC2D1,JER3,CD83,TANK,TRIB1,DENND5A, TNFAIP8,TIPARP,JER5,PMEPA1,ANXL,CCR7,CMKLR 1,CYBB,HAS2,HKH1,JLR1,IL13,KCNJ2,LCP2,NDP,P TGIR,RGS1,SLAMF1,SLC1A2,SLC4A4,TNFSF10,IL18 RAP,CHST2,RASGRP1,SEMA4D,PROK2,NLRP3,SG MS2
135	5_Membro Conjuntos de Genes Hallmark M5890 HALLMARK SINALIZAÇÃO DE TNFA ATRAVÉS DE NFKB	-9,445831962 -6,788 46/200	329,330,374,597,604,960,1316,1435,1437, 1647,1839,1846,1847,1880,1906,1959,196 0,2353,3575,3624,4082,4783,4798,5054,5 055,5142,5734,5791,6446,6648,7071,7097 ,8061,8553,8660,8767,8848,8870,9308,10 010,10223,23258,25816,25976,51278,569 37	BIRC2,BIRC3,AREG,BCL2A1,CCL6,CD44,KLF6,CSF 1,CSF2,GADD45A,HBEGF,DUSP4,DUSP5,GPR183,IE DN1,EGR2,EGR3,FOS,IL7R,INHBA,MARCKS,NFIL3, NFKB1,SERPINE1,SERPINB2,PDE4B,PTGER4,PTPR E,SGK1,SOD2,KLF10,TLR2,FOSL1,BHLHE40,IRS2,R IPK2,FSCC2D1,JER3,CD83,TANK,TRIB1,DENND5A, TNFAIP8,TIPARP,JER5,PMEPA1
136	5_Membro Conjuntos de Genes Hallmark M5932 HALLMARK RESPOSTA INFLAMATÓRIA	-5,672152239 -3,663 38/200	558,1236,1240,1316,1435,1536,1839,1880 ,1906,3037,3269,3554,3575,3600,3624,37 59,3937,4693,4790,5054,5142,5734,5739, 5791,5996,6504,6506,7097,8671,8743,876 7,8807,9433,10125,10507,60675,114548,1 66939	AXL,CCR7,CMKLR1,KLF6,CSF1,CYBB,HBEGF,GPR 183,EDN1,HAS2,HKH1,JLR1,IL7R,IL13,INHBA,KCN J2,LCP2,NDP,NFKB1,SERPINE1,PDE4B,PTGER4,PT GIR,PTPRE,RGS1,SLAMF1,SLC1A2,TLR2,SLC4A4,T NFSF10,RIPK2,IL18RAP,CHST2,RASGRP1,SEMA4D, PROK2,NLRP3,SGMS2
137	6_Resumo GO Processos Biológicos GO:0051345 regulação positiva da atividade de hidrolases	-8,700537121 -6,208 123/843	27,113,154,317,335,356,444,483,814,834, 836,841,1102,1122,1236,1378,1794,1936, 2099,2146,2185,2335,2760,2776,2864,326 8,3458,3672,3673,3688,3702,3708,3709,3 963,3987,4082,4208,4301,5137,5567,5739 ,5770,5921,5922,5996,6003,6262,6346,64 23,6846,7074,7294,7498,8412,8440,8743, 8787,8997,9267,9290,9447,9628,9754,984 4,9855,9910,10018,10049,10125,10144,10 213,10395,10451,10507,10550,10563,1066 72,11033,11214,23048,23096,23101,2316 1,23179,23216,23258,23348,25780,26037, 26230,26577,26999,30650,50848,51256,5 1429,51735,54338,54431,55122,55619,55 655,55843,57181,57186,57514,57533,575 84,64411,64744,80005,85397,90627,1123 99,114548,115727,121512,128239,128272 ,153020,153090,255743,345930,399,604,1 946,5962,8195,9353,10252,253260	ABL2,ADCY7,ADRB2,APAF1,APOA1,FASLG,ASPH, ATP1B3,CAMK4,CASP1,CASP3,CASP8,RCBTB2,CH ML,CCR7,CR1,DOCK2,EGFR,ESR1,EZH2,PTK2B,FN 1,GMCA,GNAQ,FFAR1,AGFG2,IFNG,ITGA1,ITGA2,I TGB1,ITK,ITPR1,ITPR2,LGALS9,LIMS1,MARCKS,M EF2C,MLLT4,PDE1C,PRKAC8,PTGIR,PTPN1,RASA1 ,RASA2,RGS1,RGS13,RYR2,CCL3,SFRP2,XCL2,TIA M1,TXK,XDH,BCAR3,NCK2,TNFSF10,RGS9,KALRN ,CYTH1,GPRS5,ARM2,RGS6,STARD8,ELMO1,FARP2, RABGAP1L,BCL2L11,DNAJB6,RASGRP1,PAM13,P SMD14,DLC1,VAV3,SEMA4D,ARL6IP5,CXCL13,GN A13,ADAP1,AKAP13,FNBP1,IQSEC2,MCF2L2,SNX1 3,RGL1,TBC1D1,DENND5A,DOCK9,RASGRP3,SIPA 1L1,TIAM2,PCDHGC3,CYFIP2,ARHGEF3,F11R,TBC1 D7,SNX9,RAPGEF6,ERRFI1,DNAJC10,AKIRIN2,EIF CK10,NLRP2,ARHGAP15,SLC39A10,RALGAPA2,AR HGAP31,TBC1D14,ARHGAP21,ARAP3,SMAP2,DOC K5,RGS8,STARD13,EGLN3,NLRP3,RASGRP4,FGD4,I QGAP3,ARHGEF19,RASGEF1B,DAB2IP,NPNT,ECT2 L,RHOH,BCL6,EFNA5,RDX,MKKS,SLIT2,SPRY1,RI CTOR

138	6_ Membro GO Processos Biológicos GO:0051345 regulação positiva da atividade de hidrolases	-8,709537121 -6,208 123/843	27,113,154,317,335,356,444,483,814,834, 836,841,1102,1122,1236,1378,1794,1956, 2099,2146,2185,2335,2760,2776,2864,3268, 8,3458,3672,3673,3688,3702,3708,3709,3 965,3987,4082,4208,4301,5137,5567,5739 ,5770,5921,5922,5966,6003,6262,6346,64 23,6846,7074,7294,7498,8412,8440,8745, 8787,8997,9267,9290,9447,9628,9754,984 4,9855,9910,10018,10049,10125,10144,10 213,10395,10451,10507,10590,10663,1086 72,11033,11214,23048,23096,23101,2316 1,23179,23216,23258,23348,25780,26037, 26230,26577,26999,50650,50848,51256,5 1429,51735,54306,54431,55122,55619,55 655,55843,57181,57186,57514,57533,575 84,64411,64744,80005,85397,90627,1123 99,114548,115727,121512,128239,128272 ,153020,153090,255743,345930	ABL2,ADCY7,ADRB2,APAF1,APOA1,FASLG,ASPH, ATP1B3,CAMK4,CASP1,CASP3,CASP8,RCBTB2,CH ML,CCR7,CR1,DOCK2,EGFR,ESR1,EZH2,PTK2B,FN 1,GM2A,GNAQ,FFAR1,AGFG2,IFNG,ITGA1,ITGA2,I TGB1,ITK,ITPR1,ITPR2,LGALS9,LIMS1,MARCKS,M EF2C,MLLT4,PDE1C,PRKAC8,PTGIR,PTPN1,RASA1 ,RASA2,RGS1,RGS13,RYR2,CCL1,SFRP2,XCL2,TIA M1,TYK,XDH,BCAR3,NCK2,TNFSF10,RGS9,KALRN ,CYTH1,GPR55,ARM2,RGS6,STARD8,ELMO1,FARP2, RABGAP1L,BCL2L11,DNAJB6,RASGRP1,FAM13A,P SMD14,DLC1,VAV3,SEMA4D,AR16P5,CXCL13,GN A13,ADAP1,AKAP13,FNBP1,IQSEC2,MCF2L2,SNX1 3,RGL1,TBC1D1,DENND5A,DOCK9,RASGRP3,SIPA 1L1,TIAM2,PCDLC82,CYFIP2,ARHGEF3,P11R,TBC1 D7,SNX9,RAPGEF6,ERRFI1,DNAIC10,AKIRIN2,DO CK10,NLRP2,ARHGAP15,SLC39A10,RALGAPA2,AR HGAP31,TBC1D14,ARHGAP21,ARAP3,SMAP2,DOC K5,RGS8,STARD13,EGLN3,NLRP3,RASGRP4,FGD4,I QGAP3,ARHGEF19,RASGEF1B,DAB2IP,NPNT,ECT2 L
139	6_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043087 regulação da atividade de GTPase	-5,6299352 -3,632 81/365	399,604,1102,1122,1236,1794,1946,2146, 2185,2776,2864,3268,3688,3987,4301,573 9,5921,5922,5962,5996,6003,6346,6846,7 074,8195,8412,8440,8787,8997,9267,9353 ,9628,9754,9844,9855,9910,10125,10144, 10252,10395,10451,10507,10563,11033,1 1214,23048,23096,23101,23161,23179,23 216,23258,23348,25780,26037,26230,506 50,50848,51256,51429,51735,54206,5561 9,55843,57186,57514,57533,57584,64411, 64744,80005,85397,90627,115727,121512 ,128239,128272,153020,153090,253260,3 45930	RHOH,BCL6,RCBTB2,CHML,CCR7,DOCK2,EPNA3, EZH2,PTK2B,GNAQ,FFAR1,AGFG2,ITGB1,LIMS1,M LLT4,PTGIR,RASA1,RASA2,RDX,RGS1,RGS13,CCL 1,XCL2,TIAM1,MKKS,BCAR3,NCK2,RGS9,KALRN, CYTH1,SLIT2,RGS6,STARD8,ELMO1,FARP2,RABG AP1L,RASGRP1,FAM13A,SPRY1,DLC1,VAV3,SEMA 4D,CXCL13,ADAP1,AKAP13,FNBP1,IQSEC2,MCF2L 2,SNX13,RGL1,TBC1D1,DENND5A,DOCK9,RASGRP 3,SIPA1L1,TIAM2,ARHGEF3,P11R,TBC1D7,SNX9,R APGEF6,ERRFI1,DOCK10,ARHGAP15,RALGAPA2,A RHGAP31,TBC1D14,ARHGAP21,ARAP3,SMAP2,DO CK5,RGS8,STARD13,RASGRP4,FGD4,IQGAP3,ARH GEF19,RASGEF1B,DAB2IP,RECTOR,ECT2L
140	6_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043547 regulação positiva da atividade de GTPase	-3,022246638 -3,107 73/513	1102,1122,1236,1794,2146,2185,2776,286 4,3268,3688,3987,4301,5739,5921,5922,5 996,6003,6346,6846,7074,8412,8440,8787 ,8997,9267,9628,9754,9844,9855,9910,10 125,10144,10395,10451,10507,10563,110 33,11214,23048,23096,23101,23161,2317 9,23216,23258,23348,25780,26037,26230,	RCBTB2,CHML,CCR7,DOCK2,EZH2,PTK2B,GNAQ,F FAR1,AGFG2,ITGB1,LIMS1,MLLT4,PTGIR,RASA1,R ASA2,RGS1,RGS13,CCL1,XCL2,TIAM1,BCAR3,NCK 2,RGS9,KALRN,CYTH1,RGS6,STARD8,ELMO1,FAR P2,RABGAP1L,RASGRP1,FAM13A,DLC1,VAV3,SE MA4D,CXCL13,ADAP1,AKAP13,FNBP1,IQSEC2,MC F2L2,SNX13,RGL1,TBC1D1,DENND5A,DOCK9,RAS

			50630,30848,51236,51429,51735,54206,55619,55843,57186,57314,57333,57584,64411,64744,80085,85397,90627,115727,121512,128239,128272,153020,153090,345930	GRP3,SIPA1L3,TIAM2,ARHGEF3,F11R,TBC1D7,SNX9,RAPGEF6,ERRFI1,DOCK10,ARHGAP15,RALGAPA2,ARHGAP31,TBC1D14,ARHGAP23,ARAP3,SMAP2,DOCK5,RGS8,STARD13,RASGRP4,FGD4,IQGAP3,ARHGEF19,RASGEF1B,DAB2IP,ECT2L
141	?_Resumo GO Processos Biológicos (GO:0044060) cicatrização de feridas	-8,560047357 -6,0068 1110732	81,154,284,301,302,308,335,347,483,493,538,682,832,836,914,960,965,1316,1525,1839,1906,2054,2113,2146,2153,2157,2244,2335,2534,2596,2625,2697,2768,2776,3442,3479,3481,3635,3660,3672,3673,3680,3688,3708,3709,3778,3796,3835,3937,4488,8460,8815,8853,8954,9056,9290,9295,9321,9547,9567,9579,9734,9739,9770,9890,9912,6239,6383,6850,7033,7048,7114,7294,7301,7424,7476,7534,8140,8291,8525,8573,9948,10125,10257,10392,10451,10487,10672,10855,11093,11122,23122,23344,23499,26509,27094,30845,50848,54331,54518,54566,55576,79001,79025,81606,86,94939,120425,128272,146850,373056,113,5402,2692,3037,3783,5021,5600,7421,74667498,8626,8648,9076,27341,54843	ACTN4,ADRB2,ANGPT1,ANXA1,ANXA2,ANXA5,APOA1,APOD,ATP1B3,ATP2B4,AXL,BSG,CAPZB,CASP3,CD2,CD44,CD58,KLF6,CXADR,HBEGF,EDN1,STX2,ETS1,EZH2,F5,F8,FGB,FN1,FYN,GAP43,GATA3,GJA1,GNA12,GNAQ,IFNA5,IGF1,IGF2,INPP5D,IRF2,ITGA1,ITGA2,ITGA9,ITGB1,ITPR1,ITPR2,KCNMA1,KIF2A,KIF22,LCP2,MSX2,MYB,NIN2,NOTCH2,SERPINE1,SERPINB2,PIK3CA,PIK3R1,PLAXG4A,PRCP,PRKACB,PRKCB,PTGER4,PTGIR,PTPN1,RAD51B,RAP2B,RREB1,SDC2,SYK,TFPI,TGFBR2,TMSB4X,TNK2,TYRO3,VEGFC,WNT7A,YWHAZ,SLC7A5,DYSF,DGKZ,CASK,WDR1,RASGRP1,ABCC4,HMG20B,VAV3,CAP1,GNA13,HPSE,ADAMTS13,KIF3A,CLASP2,DOCK9,MACF1,MYOF,KCNMB3,EHD3,F11R,GNG2,APBB1IP,EPB41L4B,STAB2,VKORC1,NDNF,LBH,UBASH3BJAML,ARHGEF19,PIK3R6,MIA3,ADCY7,ATP7B,GRRHR,HAS2,KCNN4,OXTR,PTPRO,VDR,WFS1,XDH,TP63,NCOA1,CLDN1,SFK39,SYTL2
142	?_Membro GO Processos Biológicos (GO:0044060) cicatrização de feridas	-8,560047357 -6,0068 1110732	81,154,284,301,302,308,335,347,483,493,538,682,832,836,914,960,965,1316,1525,1839,1906,2054,2113,2146,2153,2157,2244,2335,2534,2596,2625,2697,2768,2776,3442,3479,3481,3635,3660,3672,3673,3680,3688,3708,3709,3778,3796,3835,3937,4488,8460,8815,8853,8954,9056,9290,9295,9321,9547,9567,9579,9734,9739,9770,9890,9912,6239,6383,6850,7033,7048,7114,7294,7301,7424,7476,7534,8140,8291,8525,8573,9948,10125,10257,10392,10451,10487,10672,10855,11093,11122,23122,23344,23499,26509,27094,30845,50848,54331,54518,54566,55576,79001,79025,81606,86,94939,120425,128272,146850,373056	ACTN4,ADRB2,ANGPT1,ANXA1,ANXA2,ANXA5,APOA1,APOD,ATP1B3,ATP2B4,AXL,BSG,CAPZB,CASP3,CD2,CD44,CD58,KLF6,CXADR,HBEGF,EDN1,STX2,ETS1,EZH2,F5,F8,FGB,FN1,FYN,GAP43,GATA3,GJA1,GNA12,GNAQ,IFNA5,IGF1,IGF2,INPP5D,IRF2,ITGA1,ITGA2,ITGA9,ITGB1,ITPR1,ITPR2,KCNMA1,KIF2A,KIF22,LCP2,MSX2,MYB,NIN2,NOTCH2,SERPINE1,SERPINB2,PIK3CA,PIK3R1,PLAXG4A,PRCP,PRKACB,PRKCB,PTGER4,PTGIR,PTPN1,RAD51B,RAP2B,RREB1,SDC2,SYK,TFPI,TGFBR2,TMSB4X,TNK2,TYRO3,VEGFC,WNT7A,YWHAZ,SLC7A5,DYSF,DGKZ,CASK,WDR1,RASGRP1,ABCC4,HMG20B,VAV3,CAP1,GNA13,HPSE,ADAMTS13,KIF3A,CLASP2,DOCK9,MACF1,MYOF,KCNMB3,EHD3,F11R,GNG2,APBB1IP,EPB41L4B,STAB2,VKORC1,NDNF,LBH,UBASH3BJAML,ARHGEF19,PIK3R6,MIA3
143	?_Membro	-6,294468359	81,113,154,284,302,308,335,483,493,540,	ACTN4,ADCY7,ADRB2,ANGPT1,ANXA2,ANXA5,A

	GO Processos Biológicos GO:0050878 regulação de níveis de fluidos corporais	-4,145 1000715	558,682,832,914,960,965,1525,1906,2054,2153,2157,2244,2335,2534,2625,2692,2697,2768,2776,3037,3442,3479,3481,3635,3660,3672,3673,3688,3708,3709,3778,3783,3796,3835,3937,4602,5021,5054,5055,5290,5295,5321,5547,5567,5579,5734,5739,5770,5800,5890,5912,6850,7035,7114,7294,7314,8140,8525,9948,10125,10257,10362,10451,10487,10672,10855,11093,11127,23348,27094,27347,30845,50848,54331,54843,55576,79001,81606,84959,120423,146850	P0A1,ATP1B3,ATP2B4,ATP7B,AXL,BSG,CAPZB,CD2,CD44,CD58,CX3CR1,EDN1,STX2,F5,F8,FGB,FN1,FYN,GATA3,GHRHR,GJA1,GNA12,GNAQ,HAS2,IFNA2,IGF1,IGF2,INPP5D,IRF2,ITGA1,ITGA2,ITGB1,ITPR1,ITPR2,KCNMA1,KCNN4,KIF2A,KIF22,LCP2,MYB,OXTR,SERPINE1,SERPINB2,PIK3CA,PIK3R1,PLA2G4A,PRCP,PRKACB,PRKCB,PTGER4,PTGIR,PTPN1,PTPRO,RAD51B,RAP2B,SYK,TFPI,TMSB4X,TXK,TYRO3,VEGFC,VDR,VEGFC,WFS1,XDH,YWHAZ,SLC7A5,DGKZ,WDR1,RASGRP1,ABCC4,HMG20B,ZFP36,NCOA1,CLDN1,WDR1,RASGRP1,ABCC4,HMG20B,GNA13,HPSE,ADAMTS13,KIF3A,DOCK9,KCNMB3,STK39,EHD3,F11R,GNG2,APBB1IP,SYTL2,STAB2,VKORC1L1,BEND5,ASH3B,JAML,PIK3R6
144	7_Membro GO Processos Biológicos GO:0007596 coagulação do sangue	-6,251911553 -4,115 83/563	81,154,284,302,308,335,483,493,558,682,832,914,960,965,1525,1906,2054,2153,2157,2244,2335,2534,2625,2768,2776,3442,3479,3481,3635,3660,3672,3673,3688,3708,3709,3778,3783,3796,3835,3937,4602,5054,5055,5290,5295,5321,5547,5567,5579,5739,5770,5890,5912,6850,7035,7114,7294,7314,8140,8525,9948,10125,10257,10362,10451,10487,10672,10855,11093,11127,23348,27094,30845,50848,54331,54843,55576,79001,81606,84959,120423,146850	ACTN4,ADRB2,ANGPT1,ANXA2,ANXA5,APOA1,ATP1B3,ATP2B4,AXL,BSG,CAPZB,CD2,CD44,CD58,CX3CR1,EDN1,STX2,F5,F8,FGB,FN1,FYN,GATA3,GNA12,GNAQ,HAS2,IFNA2,IGF1,IGF2,INPP5D,IRF2,ITGA1,ITGA2,ITGB1,ITPR1,ITPR2,KCNMA1,KIF2A,KIF22,LCP2,MYB,SERPINE1,SERPINB2,PIK3CA,PIK3R1,PLA2G4A,PRCP,PRKACB,PRKCB,PTGIR,PTPN1,RAD51B,RAP2B,SYK,TFPI,TMSB4X,TXK,TYRO3,VEGFC,YWHAZ,SLC7A5,DGKZ,WDR1,RASGRP1,ABCC4,HMG20B,VAV3,CAP1,GNA13,HPSE,ADAMTS13,KIF3A,DOCK9,KCNMB3,EHD3,F11R,GNG2,APBB1IP,STAB2,VKORC1L1,BEND5,ASH3B,JAML,PIK3R6
145	7_Membro GO Processos Biológicos GO:0050817 coagulação	-6,123838721 -4,031 83/567	81,154,284,302,308,335,483,493,558,682,832,914,960,965,1525,1906,2054,2153,2157,2244,2335,2534,2625,2768,2776,3442,3479,3481,3635,3660,3672,3673,3688,3708,3709,3778,3783,3796,3835,3937,4602,5054,5055,5290,5295,5321,5547,5567,5579,5739,5770,5890,5912,6850,7035,7114,7294,7314,8140,8525,9948,10125,10257,10362,10451,10487,10672,10855,11093,11127,23348,27094,30845,50848,54331,54843,55576,79001,81606,84959,120423,146850	ACTN4,ADRB2,ANGPT1,ANXA2,ANXA5,APOA1,ATP1B3,ATP2B4,AXL,BSG,CAPZB,CD2,CD44,CD58,CX3CR1,EDN1,STX2,F5,F8,FGB,FN1,FYN,GATA3,GNA12,GNAQ,HAS2,IFNA2,IGF1,IGF2,INPP5D,IRF2,ITGA1,ITGA2,ITGB1,ITPR1,ITPR2,KCNMA1,KIF2A,KIF22,LCP2,MYB,SERPINE1,SERPINB2,PIK3CA,PIK3R1,PLA2G4A,PRCP,PRKACB,PRKCB,PTGIR,PTPN1,RAD51B,RAP2B,SYK,TFPI,TMSB4X,TXK,TYRO3,VEGFC,YWHAZ,SLC7A5,DGKZ,WDR1,RASGRP1,ABCC4,HMG20B,VAV3,CAP1,GNA13,HPSE,ADAMTS13,KIF3A,DOCK9,KCNMB3,EHD3,F11R,GNG2,APBB1IP,STAB2,VKORC1L1,BEND5,ASH3B,JAML,PIK3R6
146	7_Membro GO Processos Biológicos	-6,092126737 -4,010	81,154,284,302,308,335,483,493,558,682,832,914,960,965,1525,1906,2054,2153,2157,2244,2335,2534,2625,2768,2776,3442,3479,3481,3635,3660,3672,3673,3688,3708,3709,3778,3783,3796,3835,3937,4602,5054,5055,5290,5295,5321,5547,5567,5579,5739,5770,5890,5912,6850,7035,7114,7294,7314,8140,8525,9948,10125,10257,10362,10451,10487,10672,10855,11093,11127,23348,27094,30845,50848,54331,54843,55576,79001,81606,84959,120423,146850	ACTN4,ADRB2,ANGPT1,ANXA2,ANXA5,APOA1,ATP1B3,ATP2B4,AXL,BSG,CAPZB,CD2,CD44,CD58,CX3CR1,EDN1,STX2,F5,F8,FGB,FN1,FYN,GATA3,GNA12,GNAQ,HAS2,IFNA2,IGF1,IGF2,INPP5D,IRF2,ITGA1,ITGA2,ITGB1,ITPR1,ITPR2,KCNMA1,KIF2A,KIF22,LCP2,MYB,SERPINE1,SERPINB2,PIK3CA,PIK3R1,PLA2G4A,PRCP,PRKACB,PRKCB,PTGIR,PTPN1,RAD51B,RAP2B,SYK,TFPI,TMSB4X,TXK,TYRO3,VEGFC,YWHAZ,SLC7A5,DGKZ,WDR1,RASGRP1,ABCC4,HMG20B,VAV3,CAP1,GNA13,HPSE,ADAMTS13,KIF3A,DOCK9,KCNMB3,EHD3,F11R,GNG2,APBB1IP,STAB2,VKORC1L1,BEND5,ASH3B,JAML,PIK3R6

	GO:0007599 hemostasia	83/568	37,2244,2335,2534,2625,2768,2776,3442, 3479,3481,3635,3660,3672,3673,3688,370 8,3709,3778,3796,3835,3937,4602,5054,5 055,5290,5295,5321,5547,5567,5579,5739 ,5770,5890,5912,6850,7035,7114,7294,73 01,7424,7534,8140,8525,8948,10125,10257 7,10362,10451,10487,10672,10855,11093, 11127,23348,27094,30845,50848,54331,5 4518,55576,79001,81606,84959,120429,1 46850	ADR,EDN1,STX2,F5,F8,FGB,EN1,FYN,GATA3,GNAI 2,GNAQ,IFNA5,IGF1,IGF2,INPPSD,IRF2,ITGA1,ITGA 2,ITGB1,ITPR1,ITPR2,KCNMA1,KIF2A,KIF22,LCP2, MYB,SERPINE1,SERPIND2,PIK3CA,PIK3R1,PLA2G4 A,PRCP,PRKACB,PRKCB,PTGIR,PTPN1,RAD51B,RA P2B,SYK,TIPI,TMSB4X,TXK,TYRO3,VEGFC,YWHA Z,SLC7A5,DGKZ,WDR1,RASGRP1,ABCC4,BMG20B, VAV3,CAP1,GNA13,HPSE,ADAMTS13,KIF3A,DOCK 9,KCNMB3,EHD3,F11R,GNG2,APBB1IP,STAB2,VKO RC1,LBH,UBASH3B,JAML,PIK3R6
147	7_ Membro GO Processos Biológicos GO:0030168 ativação de plaquetas	-4,203860196 -2,435 41/256	81,154,335,558,2153,2157,2244,2335,253 4,2768,2776,3479,3481,3708,3709,3937,5 054,5290,5295,5321,5579,5770,5912,6850 ,7114,7294,7301,7424,7534,8525,9948,10 125,10257,10451,10487,10672,11093,543 31,54518,84959,146850	ACTN4,ADRB2,APOA1,AXL,F5,F8,FGB,FN1,FYN,G NA12,GNAQ,IGF1,IGF2,ITPR1,ITPR2,LCP2,SERPINE 1,PIK3CA,PIK3R1,PLA2G4A,PRKCB,PTPN1,RAP2B, SYK,TMSB4X,TXK,TYRO3,VEGFC,YWHAZ,DGKZ, WDR1,RASGRP1,ABCC4,VAV3,CAP1,GNA13,ADA MTS13,GNG2,APBB1IP,UBASH3B,PIK3R6
148	7_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002576 desgranulação de plaquetas	-2,193138427 -0,915 15/87	81,335,2153,2157,2244,2335,3479,3481,5 054,6850,7114,7424,9948,10257,10487	ACTN4,APOA1,F5,F8,FGB,FN1,IGF1,IGF2,SERPINE1 ,SYK,TMSB4X,VEGFC,WDR1,ABCC4,CAP1
149	8_ Resumo GO Processos Biológicos GO:0046631 ativação de células T alfa- beta	-8,507262902 -6,027 30/107	301,596,604,940,942,944,1794,2625,3077, 3458,3592,3690,3702,3965,4602,5734,609 5,6304,6850,7048,7292,7704,8320,8767,8 995,9308,27086,64218,114548,149233,33 8539,911,3442,54518,4015,18802,185,485 3,23228,30009,80762,861,3142,5144,6711 ,6885,3596,6504,10125,64581,117194,644 1	ANXA1,BCL2,BCL6,CD28,CD96,TNFSF8,DOCK2,GA TA3,IFNG,IL12A,IL15,ITK,LGALS9,MYB,PTGE R4,RORA,SATB1,SYK,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,EO MES,RIPK2,TNFSF18,CD83,FOXP1,SEMA4A,NLRP3, IL23R,CLEC4D,CD1C,IFNA5,APBB1IP,CDH17,GPR1 83,PTK2B,NOTCH2,PLCL2,TBX21,NDFIP1,RUNX1,P DE4B,PDE4D,SPTBN1,MAP3K7,IL13,SLAMF1,RASG RP1,CLEC7A,MRGPRX2,SFTPD
150	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0046631 ativação de células T alfa- beta	-8,507262902 -6,027 30/107	301,596,604,940,942,944,1794,2625,3077, 3458,3592,3690,3702,3965,4602,5734,609 5,6304,6850,7048,7292,7704,8320,8767,8 995,9308,27086,64218,114548,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,CD28,CD96,TNFSF8,DOCK2,GA TA3,IFNG,IL12A,IL15,ITK,LGALS9,MYB,PTGE R4,RORA,SATB1,SYK,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,EO MES,RIPK2,TNFSF18,CD83,FOXP1,SEMA4A,NLRP3, IL23R
151	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0046632 diferenciação de células T alfa-beta	-8,382182698 -5,916 25/79	301,596,604,942,944,2625,3458,3702,396 5,4602,5734,6095,6304,6850,7048,7292,7 704,8320,8767,8995,9308,27086,64218,11 4548,149233	ANXA1,BCL2,BCL6,CD86,TNFSF8,GATA3,IFNG,ITK ,LGALS9,MYB,PTGER4,RORA,SATB1,SYK,TGFBR2 ,TNFSF4,ZBTB16,EOMES,RIPK2,TNFSF18,CD83,FO XP1,SEMA4A,NLRP3,IL23R
152	8_ Membro GO Processos Biológicos	-6,855267689 -4,622	301,604,942,2625,3458,3965,4602,5734,6 095,7292,8320,8767,8995,27086,64218,11	ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGALS9,MYB,PT GER4,RORA,TNFSF4,EOMES,RIPK2,TNFSF18,FOXP

	GO:0002293 diferenciação de células T alfa-beta envolvida na resposta imune	17/47	4548,149233		1,SEMA4A,NLRP3,IL23R
153	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002287 ativação de células T alfa-beta envolvida na resposta imune	-6,855267689 -4,622 17/47	301,604,942,2625,3458,3965,4602,5734,6 095,7292,8320,8767,8995,27086,64218,11 4548,149233		ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGAL S9,MYB,PT GER4,RORA,TNFSF4,EOMES,RIPK2,TNFSF18,FOXP 1,SEMA4A,NLRP3,IL23R
154	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002292 diferenciação de células T envolvida na resposta imune	-6,599084210 4 -4,399 18/54	301,604,942,2625,3458,3965,4602,5734,6 095,7292,8320,8767,8995,27086,64218,11 4548,149233,338339		ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGAL S9,MYB,PT GER4,RORA,TNFSF4,EOMES,RIPK2,TNFSF18,FOXP 1,SEMA4A,NLRP3,IL23R,CLEC4D
155	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043367 diferenciação de células T alfa-beta positivas para CD4	-6,330216734 -4,173 18/56	301,604,942,2625,3458,3965,4602,5734,6 095,6304,7292,8767,8995,9308,27086,642 18,114548,149233		ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGAL S9,MYB,PT GER4,RORA,SATB1,TNFSF4,RIPK2,TNFSF18,CD83, FOXP1,SEMA4A,NLRP3,IL23R
156	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0046637 regulação da diferenciação de células T alfa-beta	-6,219829628 -4,090 16/46	301,604,942,2625,3458,3965,4602,6850,7 048,7292,7704,8767,8995,9308,114548,14 9233		ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGAL S9,MYB,SY K,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,RIPK2,TNFSF18,CD83,N LRP3,IL23R
157	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002294 diferenciação de células T alfa-beta positivas para CD4 envolvida na resposta imune	-6,219829628 -4,090 16/46	301,604,942,2625,3458,3965,4602,5734,6 095,7292,8767,8995,27086,64218,114548, 149233		ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGAL S9,MYB,PT GER4,RORA,TNFSF4,RIPK2,TNFSF18,FOXP1,SEMA 4A,NLRP3,IL23R
158	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043370 regulação da diferenciação de células T alfa-beta positivas para CD4	-5,872464621 -3,830 13/33	301,604,942,2625,3458,3965,4602,7292,8 767,8995,9308,114548,149233		ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGAL S9,MYB,TN FSF4,RIPK2,TNFSF18,CD83,NLRP3,IL23R
159	8_ Membro	-5,604773197	301,604,940,942,2625,3077,3458,3592,39		ANXA1,BCL6,CD28,CD86,GATA3,HFE,IFNG,IL12A,

	GO Processos Biológicos GO:0046634 regulação da ativação de células T alfa-beta	-3,618 19/68	65,4602,6850,7048,7292,7704,8767,8995, 9308,114548,149233	LGALS9,MYB,SYK,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,RIPK2 ,TNFSF18,CD83,NLRP3,IL23R
160	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0035710 ativação de células T alfa-beta positivas para CD4	-5,494886602 -3,514 18/63	301,604,942,2625,3458,3965,4602,5734,6 095,6304,7292,8767,8995,9308,27086,642 18,114548,149233	ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGALS9,MYB,PT GER4,RORA,SATB1,TNFSF4,RIPK2,TNFSF18,CD83, FOXP1,SEMA4A,NLRP3,IL23R
161	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0046638 regulação positiva da diferenciação de células T alfa-beta	-5,219746935 -3,278 13/37	301,942,3458,3965,4602,6850,7048,7292, 7704,8767,9308,114548,149233	ANXA1,CD86,IFNG,LGALS9,MYB,SYK,TGFBR2,TN FSF4,ZBTB16,RIPK2,CD83,NLRP3,IL23R
162	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002286 ativação de células T envolvida na resposta imune	-5,103829931 -3,179 21/86	301,604,911,942,2625,3442,3458,3965,46 02,5734,6095,7292,8530,8767,8995,27086 ,54518,64218,114548,149233,338339	ANXA1,BCL6,CD1C,CD86,GATA3,IFNA5,IFNG,LGA LS9,MYB,PTGER4,RORA,TNFSF4,EOMES,RIPK2,TN FSF18,FOXP1,APBB1IP,SEMA4A,NLRP3,IL23R,CLE C4D
163	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:2000514 regulação da ativação de células T alfa-beta positivas para CD4	-5,073044802 -3,153 13/38	301,604,942,2625,3458,3965,4602,7292,8 767,8995,9308,114548,149233	ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,IFNG,LGALS9,MYB,TN FSF4,RIPK2,TNFSF18,CD83,NLRP3,IL23R
164	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0042093 diferenciação de células T auxiliadoras	-5,000157475 -3,094 14/44	301,604,942,2625,4602,5734,6095,7292,8 767,8995,27086,64218,114548,149233	ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,MYB,PTGER4,RORA,T NFSF4,RIPK2,TNFSF18,FOXP1,SEMA4A,NLRP3,IL2 3R
165	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043372 regulação positiva da diferenciação de células T alfa-beta positivas para CD4	-4,899313681 -3,013 10/24	301,942,3458,3965,4602,7292,8767,9308, 114548,149233	ANXA1,CD86,IFNG,LGALS9,MYB,TNFSF4,RIPK2,C D83,NLRP3,IL23R
166	8_ Membro GO Processos Biológicos	-4,863955611 -2,985	301,604,911,940,942,1013,1880,2185,262 5,3442,3458,3965,4602,4853,5734,6095,7	ANXA1,BCL6,CD1C,CD28,CD86,CDH17,GPR183,PF K2B,GATA3,IFNA5,IFNG,LGALS9,MYB,NOTCH2,PT

	GO:0002285 ativação de linfócitos envolvida na resposta imune	29/146	292,8320,8767,8995,23228,27086,300899,54518,64218,80762,114548,149233,338339	GBR4,RORA,TNFSF4,ECOMES,RIPK2,TNFSF18,PLCL2,FOXP1,TBX21,APBB1IP,SEMA4A,NDFIP1,NLRP3,IL23R,CLEC4D
167	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0046635 regulação positiva da ativação de células T alfa-beta	-4,8476582283 -2,977 15/51	301,940,942,3458,3592,3965,4602,6850,7048,7292,7704,8767,9308,114548,149233	ANXA1,CD28,CD86,IFNG,IL12A,LGALS9,MYB,SYK,TGFBR2,TNFSF4,ZBTB16,RIPK2,CD83,NLRP3,IL23R
168	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0032743 regulação positiva da produção de interleucina-2	-4,5487580065 -2,726 11/31	301,861,940,942,5142,5144,6711,6885,7292,8767,9308	ANXA1,RUNX1,CD28,CD86,PDE4B,PDE4D,SPTBN1,MAP3K7,TNFSF4,RIPK2,CD83
169	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002366 ativação de leucócitos envolvida na resposta imune	-4,4348790095 -2,633 36/209	301,604,911,940,942,1015,1794,1880,2185,2625,3442,3458,3596,3965,4602,4853,5734,6095,6504,6850,7292,8320,8767,8995,10125,23228,27086,300899,54518,64218,64581,80762,114548,117194,149233,338339	ANXA1,BCL6,CD1C,CD28,CD86,CBH17,DOCK2,GPR183,PTK2B,GATA3,IFNAS,IFNG,IL13,LGALS9,MYB,NOTCH2,PTGER4,RORA,SLAMF1,SYK,TNFSF4,EOMES,RIPK2,TNFSF18,RASGRP1,PLCL2,FOXP1,TBX21,APBB1IP,SEMA4A,CLEC7A,NDFIP1,NLRP3,MRGPRX2,IL23R,CLEC4D
170	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:2000316 regulação positiva da ativação de células T alfa-beta positivas para CD4	-4,3689900376 -2,579 10/27	301,942,3458,3965,4602,7292,8767,9308,114548,149233	ANXA1,CD86,IFNG,LGALS9,MYB,TNFSF4,RIPK2,CD83,NLRP3,IL23R
171	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002263 ativação celular envolvida na resposta imune	-4,3448966647 -2,559 36/211	301,604,911,940,942,1015,1794,1880,2185,2625,3442,3458,3596,3965,4602,4853,5734,6095,6504,6850,7292,8320,8767,8995,10125,23228,27086,300899,54518,64218,64581,80762,114548,117194,149233,338339	ANXA1,BCL6,CD1C,CD28,CD86,CBH17,DOCK2,GPR183,PTK2B,GATA3,IFNAS,IFNG,IL13,LGALS9,MYB,NOTCH2,PTGER4,RORA,SLAMF1,SYK,TNFSF4,EOMES,RIPK2,TNFSF18,RASGRP1,PLCL2,FOXP1,TBX21,APBB1IP,SEMA4A,CLEC7A,NDFIP1,NLRP3,MRGPRX2,IL23R,CLEC4D
172	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0032663 regulação da produção de interleucina-2	-3,8713711684 -2,168 13/48	301,861,940,942,2623,5142,5144,6441,6711,6885,7292,8767,9308	ANXA1,RUNX1,CD28,CD86,GATA3,PDE4B,PDE4D,SPTBN1,MAP3K7,TNFSF4,RIPK2,CD83
173	8_ Membro GO Processos Biológicos	-3,7221342279 -2,042	301,604,942,4602,7292,8767,8995,114548,149233	ANXA1,BCL6,CD86,MYB,TNFSF4,RIPK2,TNFSF18,NLRP3,IL23R

	GO:0045622 regulação da diferenciação de células T auxiliadoras	9/26		
174	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0045624 regulação positiva da diferenciação de células T auxiliadoras	-3,3537992213 -1,763 7/18	301,942,4602,7292,8767,114548,149233	ANXA1,CD86,MYB,TNFSF4,RIPK2,NLRP3,IL23R
175	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0032623 produção de interleucina-2	-3,3213439943 -1,739 13/54	301,861,940,942,2625,5143,5144,6441,67 11,6885,7292,8767,9308	ANXA1,RUNX1,CD28,CD86,GATA3,PDE4B,PDE4D, SFTPD,SFTBN1,MAP3K7,TNFSF4,RIPK2,CD83
176	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0045064 diferenciação de células T auxiliadoras 2	-3,0153327845 -1,511 6/15	301,604,942,2625,7292,114548	ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,TNFSF4,NLRP3
177	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0045628 regulação da diferenciação de células T auxiliadoras 2	-2,8762206905 -1,405 5/11	301,604,942,7292,114548	ANXA1,BCL6,CD86,TNFSF4,NLRP3
178	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:0002828 regulação da resposta imune de tipo 2	-2,3030766406 -0,992 7/26	301,604,942,2625,7292,80762,114548	ANXA1,BCL6,CD86,GATA3,TNFSF4,NDFIP1,NLRP3
179	8_ Membro GO Processos Biológicos GO:2000515 regulação negativa da ativação de células T alfa-beta positivas para CD4	-2,1886424457 -0,914 5/15	301,6044,3963,7292,8993	ANXA1,BCL6,LGALS9,TNFSF4,TNFSF18
180	9_ Resumo GO Processos Biológicos GO:0051270 regulação do movimento de componentes celulares	-8,3177600893 -3,861 112/737	27,81,284,287,301,388,347,476,596,604,7 53,817,1021,1230,1235,1236,1240,1435,1 436,1839,1906,1907,1956,2113,2185,2246 ,2335,2549,2625,2768,2786,3037,3458,34 79,3592,3642,3673,3688,3739,3911,3965, 4000,4092,4478,4653,4920,5054,5142,514 4,5295,5547,5728,5734,5793,5795,5800,5	ABL2,ACTN4,ANGPT1,ANK2,ANXA1,ANXA5,APO D,ATP1A1,BCL2,BCL6,LDLRAP1,CAMK2D,CD86,C CR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN 1,EDN2,EGFR,ETS1,PTK2B,FGF1,FN1,GAB1,GATA3, GNA12,GNRH1,HAS2,IFNG,IGF1,IL12A,INSM1,ITG A2,ITGB1,KCNJ2,LAMA5,LGALS9,LMNA,SMAD7,M SN,MYOC,ROR2,SERPINE1,PDE4B,PDE4D,PIK3R1,P

			912,5962,6239,6262,6423,6446,6653,6672,7048,7049,7074,7114,7424,7476,7852,8195,8428,8650,8660,8828,8995,9353,9469,9734,10154,10221,10395,10396,10507,10563,10672,23122,23224,23499,27086,29186,29391,54366,54986,55079,55619,56729,57111,57531,57556,57688,64218,64411,64750,80005,85407,90627,91663,114882,153090,168667,375056,6483,53223,335,1960,3379,3290,6273,6772,11156,2668,104687,30812,84159	RCP,PTEN,PTGER4,PTPRG,PTPRJ,PTPRO,RAP2B,RDX,RREB1,RYR2,SFRP2,SGK1,SORL1,SP100,TGFBR2,TGFBR3,TIAM1,TMSB4X,VEGFC,WNT7A,CXCR4,MKKS,STK24,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,SLIT2,CHST3,HDAC9,PLXNC1,FREM1,DLC1,ATP8A1,SEMA4D,CXCL13,GNA13,CLASP2,SYNE2,MACF1,FOXP1,CTNNA3,EPB41L4B,ULK4,FEZF2,DOCK10,RETN,RAB27,HACE1,SEMA6A,ZSWIM6,SEMA4A,ARAP3,SMURF2,DOCK5,NKD1,STARD13,MYADM,OSBPL8,DAB2IP,BMPER,MIA3,ST6GAL1,TRIM62,APOA1,EGR3,IDS,PIK3CA,S100A2,STAT1,PTPA3,GDNF,CAP1,SOX8,ARID5B
181	9_Membro GO Processos Biológicos GO:0051270 regulação do movimento de componentes celulares	-8,31746893 -5,861 112/757	27,81,284,287,301,308,347,476,596,604,753,817,1021,1230,1235,1236,1240,1435,1436,1839,1906,1907,1956,2113,2185,2246,2335,2549,2625,2768,2796,3037,3458,3479,3592,3642,3673,3688,3759,3911,3965,4000,4092,4478,4653,4920,5054,5142,5145,5295,5547,5728,5734,5793,5795,5800,5912,6239,6262,6423,6446,6653,6672,7048,7049,7074,7114,7424,7476,7852,8195,8428,8650,8660,8828,8995,9353,9469,9734,10154,10221,10395,10396,10507,10563,10672,23122,23224,23499,27086,29186,29391,54366,54986,55079,55619,56729,57111,57531,57556,57688,64218,64411,64750,80005,85407,90627,91663,114882,153090,168667,375056	ABL2,ACTN4,ANGPT1,ANK2,ANXA1,ANXA5,APOD,BCL2,DAPP1,BCL2,BCL6,LD1,RAD4,CAMK2D,CD86,CCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,CXCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,EGFR,ETS1,FTK2B,FGF1,FN1,GAB1,GATA3,GNA12,GNRH1,HAS2,IFNG,IGF1,IL12A,INSM1,ITGA2,ITGB1,KCNJ2,LAMA5,LGALS9,LMNA,SMAD7,MSN,MYOC,ROR2,SERPINE1,P2RY8,P2RY14,CD84,PIK3R1,PRCP,PTEN,PTGER4,PTPRG,PTPRJ,RAP2B,RDX,RREB1,SFRP2,SGK1,SORL1,SP100,TGFBR2,TIAM1,TMSB4X,VEGFC,WNT7A,CXCR4,MKKS,STK24,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,SLIT2,HDAC9,PLXNC1,FREM1,DLC1,ATP8A1,SEMA4D,CXCL13,GNA13,CLASP2,SYNE2,MACF1,FOXP1,CTNNA3,EPB41L4B,ULK4,FEZF2,DOCK10,RETN,RAB27,HACE1,SEMA6A,ZSWIM6,SEMA4A,ARAP3,SMURF2,DOCK5,NKD1,STARD13,MYADM,OSBPL8,DAB2IP,BMPER,MIA3
182	9_Membro GO Processos Biológicos GO:2000145 regulação da motilidade celular	-6,7327770223 -4,309 100/700	27,81,284,301,308,347,596,753,817,1021,1230,1235,1236,1240,1435,1436,1839,1907,1956,2113,2185,2246,2335,2549,2625,2768,2796,3037,3458,3479,3592,3642,3673,3688,3911,3965,4000,4092,4478,4653,4920,5054,5295,5547,5728,5734,5793,5795,5912,6239,6423,6446,6653,6672,7048,7074,7114,7424,7476,7852,8195,8428,8650,8660,8828,8995,9353,9734,10154,10223,10395,10396,10507,10563,10672,23122,23224,23499,27086,54566,54886,55	ABL2,ACTN4,ANGPT1,ANXA1,ANXA5,APOD,BCL2,LD1,RAD4,CAMK2D,CD86,CCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,EGFR,ETS1,FTK2B,FGF1,FN1,GAB1,GATA3,GNA12,GNRH1,HAS2,IFNG,IGF1,IL12A,INSM1,ITGA2,ITGB1,LAMA5,LGALS9,LMNA,SMAD7,MSN,MYOC,ROR2,SERPINE1,PIK3R1,PRCP,PTEN,PTGER4,PTPRG,PTPRJ,RAP2B,RDX,RREB1,SFRP2,SGK1,SORL1,SP100,TGFBR2,TIAM1,TMSB4X,VEGFC,WNT7A,CXCR4,MKKS,STK24,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,SLIT2,HDAC9,PLXNC1,TRIB1,DLC1,ATP8A1,SEMA4D,CXCL13,GNA13,C

			5619,56729,57111,57331,57556,37688,64218,64411,64750,80805,85407,90627,91663,114882,153090,168667,375056	LASP2,SYNE2,MACF1,FOXP1,EPB41L4B,ULK4,DOCK10,RETN,RAB25,HACE1,SEMA6A,ZSWIM6,SEMA4A,ARAP3,SMURF2,DOCK5,NKD1,STARD13,MYADM,OSBPL8,DAB2IP,BMPER,MIA3
183	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0030334 regulação da migração de células	-6,577119816 -4,383 95(66)	81,284,301,347,596,753,817,1230,1235,1236,1240,1435,1436,1839,1906,1907,1956,2113,2185,2246,2335,2549,2625,2768,2796,3037,3458,3479,3892,3942,3973,3688,3911,3965,4000,4092,4478,4653,4920,5054,5295,5547,5728,5734,5793,5795,5800,5912,5962,6239,6423,6446,6653,6672,7048,7074,7114,7424,7476,7852,8428,8650,8660,8828,8995,9353,9734,10154,10221,10395,10507,10563,10672,23122,23224,23499,27086,55079,55223,55619,56729,57111,57331,57556,57688,64218,64411,64750,80805,85407,90627,91663,114882,153090,168667,375056	ACTN4,ANGPT1,ANXA1,APCD,BCL2,LDLRAD4,CAMK2D,CCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,EGFR,ETS1,PTK2B,FGF1,FN1,GAB1,GATA3,GNA12,GNRH1,HAS2,IFNG,IGF1,IL12A,IN SM1,ITGA2,ITGB1,LAMA5,LGALS9,LMNA,SMAD7, MSN,MYOC,ROR2,SERPINE1,PIK3R1,PRCP,PTEN,P TGER4,PTPRG,PTPRJ,RAP2B,RDX,RREB1,SFRP2,SG K1,SORL1,SP100,TGFBR2,TIAM1,TMSB4X,VEGFC, WNT7A,CXCR4,STK24,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18, SLIT2,HDAC9,PLXNC1,TRIB1,DLC1,ATP8A1,SEMA 4D,CXCL13,GNA13,CLASP2,SYNE2,MACF1,FOXP1, EPB41L4B,ULK4,DOCK10,RETN,RAB25,HACE1,SE MA6A,ZSWIM6,SEMA4A,ARAP3,SMURF2,DOCK5,S TARD13,MYADM,OSBPL8,DAB2IP,BMPER,MIA3
184	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0040012 regulação da locomoção	-6,149712651 -4,046 104757	27,81,284,301,308,347,596,753,817,1021,1230,1235,1236,1240,1435,1436,1839,1907,1956,2113,2185,2246,2335,2549,2625,2768,2796,3037,3458,3479,3592,3642,3673,3688,3911,3965,4000,4092,4478,4653,4920,5054,5295,5547,5728,5734,5793,5795,5800,5912,5962,6239,6423,6446,6653,6672,7048,7074,7114,7424,7476,7852,8195,8428,8650,8660,8828,8995,9353,9734,10154,10221,10395,10396,10507,10563,10672,23122,23224,23499,27086,55079,55223,55619,56729,57111,57331,57556,57688,64218,64411,64750,80805,85407,90627,91663,114882,153090,168667,375056	ABL2,ACTN4,ANGPT1,ANXA1,ANXA5,APOD,BCL2,LDLRAD4,CAMK2D,CDK6,CCR1,CCR6,CCR7,CMK LR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,EGFR,ETS1,P TK2B,FGF1,FN1,GAB1,GATA3,GNA12,GNRH1,HAS 2,IFNG,IGF1,IL12A,INSM1,ITGA2,ITGB1,LAMA5,LG ALS9,LMNA,SMAD7,MSN,MYOC,ROR2,SERPINE1, PIK3R1,PRCP,PTEN,PTGER4,PTPRG,PTPRJ,PTPRO, RAP2B,RDX,RREB1,SFRP2,SGK1,ST6GAL1,SORL1, SP100,TGFBR2,TIAM1,TMSB4X,VEGFC,WNT7A,CX CR4,MKKS,STK24,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,SLIT 2,HDAC9,PLXNC1,TRIB1,DLC1,ATP8A1,SEMA4D,C XCL13,GNA13,CLASP2,SYNE2,MACF1,FOXP1,EPB4 1L4B,ULK4,TEZF2,TRIM62,DOCK10,RETN,RAB25,H ACE1,SEMA6A,ZSWIM6,SEMA4A,ARAP3,SMURF2, DOCK5,NKD1,STARD13,MYADM,OSBPL8,DAB2IP, BMPER,MIA3
185	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0010631 migração de células epiteliais	-5,438345724 -3,468 40(230)	284,335,1235,1839,1906,1960,2113,2185,2246,2625,3037,3397,3458,3673,3688,5295,5547,5728,5793,6239,6273,6672,6772,7048,7424,7476,8828,9353,9734,10563,111 56,23122,23499,27086,54566,57111,64421 8,90627,153090,168667	ANGPT1,APOA1,CCR6,HBEGF,EDN1,EGR3,ETS1,PT K2B,IGF1,GATA3,HAS2,ID1,IFNG,ITGA2,ITGB1,PI K3CA,PRCP,PTEN,PTPRG,RREB1,S100A2,SP100,ST AT1,TGFBR2,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,HDAC9,C XCL13,PTP4A3,CLASP2,MACF1,FOXP1,EPB41L4B, RAB25,SEMA4A,STARD13,DAB2IP,BMPER

186	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0090132 migração do epitélio	-3,2895711185 -3,337 40/223	284,335,1235,1839,1906,1960,2113,2185,2246,2625,3037,3397,3458,3673,3688,5294,5728,5793,6239,6273,6672,6772,7048,7424,7476,8828,9353,9734,10563,111,54366,57111,64218,64750,80005,91663,153090,168667	ANGPT1,APOA1,CCR6,HBEGF,EDN1,EGR3,ETS1,FT,K2B,FGF1,GATA3,HAS2,ID1,IFNG,ITGA2,ITGB1,PI,K3CA,PRCP,PTEN,PTPRG,RREB1,S100A2,SP100,ST,AT1,TGFBR2,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,HDAC9,C,XCL13,PTP4A3,CLASP2,MACF1,FOXP1,EPB41L4B,RAB25,SEMA4A,STARD13,DAB2IP,BMPER
187	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0030335 regulação positiva da migração de células	-3,0044472773 -3,094 59/389	81,284,596,817,1230,1235,1236,1240,1435,1436,1839,1906,1907,1956,2113,2185,2246,2335,2625,3037,3458,3479,3592,3642,3673,3688,3965,4653,4920,5054,5295,5734,5962,6239,7048,7074,7424,7476,8660,8828,8995,9734,10396,10507,10563,23122,23224,27086,54566,56729,57111,57556,64218,64750,80005,91663,153090,168667	ACTN4,ANGPT1,BCL2,CAMK2D,CCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,EGFR,ET,S1,PTK2B,FGF1,FN1,GATA3,HAS2,IFNG,IGF1,IL12A,INSM1,ITGA2,ITGB1,LGALS9,MYOC,ROR2,SERPIN,E1,PIK3R1,PTGER4,RDX,RREB1,TGFBR2,TIAM1,VE,GFC,WNT7A,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,HDAC9,A,TP8A1,SEMA4D,CXCL13,CLASP2,SYNE2,FOXP1,EP,B41L4B,RETN,RAB25,SEMA6A,SEMA4A,SMURF2,DOCK5,MYADM,DAB2IP,MIA3
188	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0090130 migração de tecidos	-5,002839936 -3,094 40/239	284,335,1235,1839,1906,1960,2113,2185,2246,2625,3037,3397,3458,3673,3688,5295,5728,5793,6239,6273,6672,6772,7048,7424,7476,8828,9353,9734,10563,111,54366,57111,64218,64750,80005,91663,153090,168667	ANGPT1,APOA1,CCR6,HBEGF,EDN1,EGR3,ETS1,PT,K2B,FGF1,GATA3,HAS2,ID1,IFNG,ITGA2,ITGB1,PI,K3CA,PRCP,PTEN,PTPRG,RREB1,S100A2,SP100,ST,AT1,TGFBR2,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,HDAC9,C,XCL13,PTP4A3,CLASP2,MACF1,FOXP1,EPB41L4B,RAB25,SEMA4A,STARD13,DAB2IP,BMPER
189	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0051272 regulação positiva do movimento de componentes celulares	-4,8223490659 -2,958 61/412	81,284,596,604,817,1230,1235,1236,1240,1435,1436,1839,1906,1907,1956,2113,2185,2246,2335,2625,3037,3458,3479,3592,3642,3673,3688,3965,4653,4920,5054,5295,5734,5962,6239,7048,7074,7424,7476,8660,8828,8995,9469,9734,10396,10507,10563,23122,23224,27086,54366,56729,57111,57556,64218,64750,80005,91663,153090,168667	ACTN4,ANGPT1,BCL2,BCL6,CAMK2D,CCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,E,GFR,ETS1,PTK2B,FGF1,FN1,GATA3,HAS2,IFNG,IGF,1,IL12A,INSM1,ITGA2,ITGB1,LGALS9,MYOC,ROR2,SERPINE1,PIK3R1,PTGER4,RDX,RREB1,TGFBR2,TI,AM1,VEGFC,WNT7A,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,C,HST3,HDAC9,ATP8A1,SEMA4D,CXCL13,CLASP2,S,YNE2,FOXP1,EPB41L4B,RETN,RAB25,SEMA6A,SE,MA4A,SMURF2,DOCK5,MYADM,DAB2IP,MIA3
190	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0001667 migração de células do tipo ameboide	-4,7973907418 -2,935 50/317	284,335,1235,1839,1906,1960,2113,2185,2246,2625,2668,2768,3037,3397,3458,3673,3688,3911,5290,5547,5728,5793,6239,6672,6772,7048,7424,7476,8828,9353,9734,10487,10507,10563,11156,23122,23224,27086,30812,54366,57111,575,56,64218,64750,84139,90627,153090,168667	ANGPT1,APOA1,CCR6,HBEGF,EDN1,EGR3,ETS1,FT,K2B,FGF1,GATA3,GBNF,GNA12,HAS2,ID1,IFNG,IT,GA2,ITGB1,LAMA5,PIK3CA,PRCP,PTEN,PTPRG,RR,EB1,S100A2,SP100,STAT1,TGFBR2,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,HDAC9,CAP1,SEMA4D,CXCL13,PTP4A,3,CLASP2,SYNE2,MACF1,FOXP1,SOX8,EPB41L4B,R,AB25,SEMA6A,SEMA4A,SMURF2,ARID5B,STARD1,3,DAB2IP,BMPER
191	9_ Membro GO Processos Biológicos	-4,6040432219 -2,778	81,284,596,817,1230,1235,1236,1240,1435,1436,1839,1906,1907,1956,2113,2185,2	ACTN4,ANGPT1,BCL2,CAMK2D,CCR1,CCR6,CCR7,CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,EGFR,ET

	GO:2000147 regulação positiva da motilidade celular	590/401	246,2335,2625,3037,3458,3479,3592,3642 ,3673,3688,3965,4633,4930,5054,5295,57 34,5962,6239,7048,7074,7424,7476,8650, 8660,8828,8995,9734,10396,10507,10563, 23122,23224,27086,54566,56729,57111,5 7556,64218,64750,80005,91663,153090,3 75056	S1,PTK2B,FGF1,FN1,GATA3,HAS2,IFNG,IGF1,IL12A ,NSM1,ITGA2,ITGB1,LGALS9,MYOC,ROR2,SERPIN E1,PIK3R1,PTGER4,RDX,RREB1,TGFBR2,TIAM1,VE GFC,WNT7A,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,HDAC9,A FF8A1,SEMA4D,CXCL13,CLASP2,SYNE2,FOXP1,EP B41L4B,RETN,RAB25,SEMA6A,SEMA4A,SMURF2, DOCK5,MYADM,DAB2IP,MIA3
192	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0010632 regulação da migração de células epiteliais	-4,59606644542 -2,771 33/1166	284,1235,1839,1906,2113,2185,2246,2625 ,3037,3458,3673,5547,5793,6239,6672,70 48,7424,7476,8828,9353,9734,10563,2312 2,23499,27086,54566,57111,64218,90627, 153090,168667	ANGPT1,CCR6,HBEGF,EDN1,ETS1,PTK2B,FGF1,GA TA3,HAS2,IFNG,ITGA2,PRCP,PTPRG,RREB1,SPP1, TGFBR2,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,HDAC9,CXCL 13,CLASP2,MACF1,FOXP1,EPB41L4B,RAB25,SEMA 4A,STARD13,DAB2IP,BMPER
193	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0044057 regulação positiva da locomoção	-4,351574006 -2,563 60/418	81,284,596,817,1230,1235,1236,1240,143 5,1436,1839,1906,1907,1956,2113,2185,2 246,2335,2625,3037,3458,3479,3592,3642 ,3673,3688,3965,4633,4930,5054,5295,57 34,5962,6239,7048,7074,7424,7476,8650, 8660,8828,8995,9353,9734,10396,10507,1 0563,23122,23224,27086,54566,56729,57 111,57556,64218,64750,80005,91663,153 090,375056	ACTN4,ANGPT1,BCL2,CAMK2D,CCR1,CCR6,CCR7, CMKLR1,CSF1,CSF1R,HBEGF,EDN1,EDN2,EGFR,ET S1,PTK2B,FGF1,FN1,GATA3,HAS2,IFNG,IGF1,IL12A ,NSM1,ITGA2,ITGB1,LGALS9,MYOC,ROR2,SERPIN E1,PIK3R1,PTGER4,RDX,RREB1,TGFBR2,TIAM1,VE GFC,WNT7A,NUMB,IRS2,NRP2,TNFSF18,SLIT2,HD AC9,ATP8A1,SEMA4D,CXCL13,CLASP2,SYNE2,FO XP1,EPB41L4B,RETN,RAB25,SEMA6A,SEMA4A,SM URF2,DOCK5,MYADM,DAB2IP,MIA3
194	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043542 migração de células endoteliais	-4,053476657 -2,329 28/153	284,335,1906,1960,2113,2185,2246,2625, 3397,3688,5290,5547,5728,6273,6672,677 2,7424,7476,8828,9353,9734,10563,11156 ,27086,64218,90627,153090,168667	ANGPT1,APOA1,EDN1,EGR3,ETS1,PTK2B,FGF1,GA TA3,ID1,ITGB1,PIK3CA,PRCP,PTEN,S100A2,SPP1,S TAT1,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,HDAC9,CXCL12, PTP4A3,FOXP1,SEMA4A,STARD13,DAB2IP,BMPER
195	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0010634 regulação positiva da migração de células epiteliais	-3,413016187 -1,807 20/103	284,1235,1839,1906,2113,2185,2625,3037 ,3458,3673,6239,7048,7424,7476,8828,97 34,23122,27086,54566,57111	ANGPT1,CCR6,HBEGF,EDN1,ETS1,PTK2B,GATA3, HAS2,IFNG,ITGA2,RREB1,TGFBR2,VEGFC,WNT7A, NRP2,HDAC9,CLASP2,FOXP1,EPB41L4B,RAB25
196	9_ Membro GO Processos Biológicos GO:0010594 regulação da migração de células endoteliais	-2,460981437 -1,185 19/114	284,1906,2113,2185,2246,2625,5547,6672 ,7424,7476,8828,9353,9734,10563,27086, 64218,90627,153090,168667	ANGPT1,EDN1,ETS1,PTK2B,FGF1,GATA3,PRCP,SPP 00,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,HDAC9,CXCL13,FO XP1,SEMA4A,STARD13,DAB2IP,BMPER
197	10_Resumo GO Processos Biológicos GO:0006954 resposta inflamatória	-8,282218427 1 -5,768 99/646	154,301,313,329,330,335,347,558,604,814 ,834,922,940,943,1230,1232,1233,1234,12 36,1378,1393,1435,1446,1536,2113,2157, 2335,2353,2625,2693,2697,2829,3077,326	ADRB2,ANXA1,AOAH,BIRC2,BIRC3,APOA1,APOD, AXL,BCL6,CAMK4,CASP1,CD51,CD38,TNFRSF8,CC R1,CCR3,CCR4,CCR5,CCR7,CR1,CRHBP,CSF1,CSF1 R,CYBB,ETS1,F8,FN1,FOS,GATA3,GHSR,GJA1,XCR

			9,3516,3354,3557,3559,3567,3568,3596,3 680,3673,3965,4048,4142,4790,4907,5004 ,5054,5290,5321,5547,5734,5740,6095,63 46,6672,6846,6850,7097,7292,7301,7356, 7852,8111,8600,8767,8807,8995,9051,917 3,9353,9435,9447,9734,10100,10125,1033 3,10963,11221,27086,27178,27347,29949, 50848,54106,54899,55655,56300,60673,6 4581,79931,80762,114548,118788,149233 ,153090,253260,302,308,1839,1906,2054, 2244,5055,5728,6239,7048,7294,8428,857 3,10855,23132,55576,81606,84959,526,52 8,639,665,836,919,1235,1240,1794,1907,2 040,2185,2246,2534,3592,4057,4534,5145 ,5305,5654,5800,6480,6720,7004,7074,74 24,7709,8195,8787,9469,9844,9982,10154 ,10221,10507,23369,23545,51606,55079,5 5090,55763,57533,57556,60386,64218,80 763,128866,340061,403,3481	1,HFE,HRH1,RBP1,IL1R1,IL1RN,IL2RA,IL5,IL5RA,IL 13,IL15,ITGA2,LGALS9,LTA4H,MAS1,NFKB1,NTSE, ORM1,SERPINE1,PIK3CA,PLA2G4A,PRCP,PTGER4, PTGIS,RORA,CCL1,SP100,XCL2,SYK,TLR2,TNFSF4, TYRO3,SCGB1A1,CXCR4,GPR68,TNFSF11,RIPK2,IL 18RAP,TNFSF18,PSTPIP1,IL1RL1,SLIT2,CHST2,ADM 2,HDAC9,TSPAN2,RASGRP1,TLR6,CXCL13,DUSP10 ,FOXP1,IL37,STK39,IL19,F11R,TLR9,PXK,NLRP2,IL3 6G,PROK2,CLEC7A,TNIP3,NOTCH1,NLRP3,PIK3AP1, IL23R,DAB2IP,RICTOR,ANXA2,ANXA5,HBEGF,ED N1,STX2,FGB,SERPINB2,PTEN,RREB1,TGFBR2,TX K,STK24,CASK,HPSE,CLASP2,STAB2,LBH,UBASH3 B,ATP6V1B2,ATP6V1C1,PRDM1,BNIP3L,CASP3,CD 247,CCR6,CMKLR1,DOCK2,EDN2,STOM,PTK2B,FG F1,FYN,IL12A,LTF,MTM1,PDE6A,PIP4K2A,HTRA1,P TPRO,ST6GAL1,SREBF1,TEAD4,TIAM1,VEGFC,ZB TB17,MKKS,RGS9,CHST3,ELMO1,FGFBP1,PLXNC1, TRIB1,SEMA4D,PLIM2,ATP6V0A2,ATP6V1H,FEZF2, PACS1,ENOC1,TBC1D14,SEMA6A,SLC25A19,SEMA 4A,SPX,CHMP4B,TMEM173,ADAR,IGF2
198	10_Membro GO Processos Biológicos GO:0006954 resposta inflamatória	-8,202184271 -5,768 99646	154,301,313,329,330,335,347,558,604,814 ,834,922,940,943,1230,1232,1233,1234,12 36,1378,1393,1435,1436,1536,2113,2157, 2335,2353,2625,2693,2697,2829,3077,326 9,3516,3554,3557,3559,3567,3568,3596,3 680,3673,3965,4048,4142,4790,4907,5004 ,5054,5290,5321,5547,5734,5740,6095,63 46,6672,6846,6850,7097,7292,7301,7356, 7852,8111,8600,8767,8807,8995,9051,917 3,9353,9435,9447,9734,10100,10125,1033 3,10963,11221,27086,27178,27347,29949, 50848,54106,54899,55655,56300,60673,6 4581,79931,80762,114548,118788,149233 ,153090,253260	ADRB2,ANXA1,AOAH,BIRC2,BIRC3,APOA1,APOD, AXL,BCL6,CAMK4,CASP1,CD5L,CD28,TNFRSF8,CC R1,CCR3,CCR4,CCR5,CCR7,CR1,CRHBP,CSF1,CSF1 R,CYBB,EFS1,F8,FN1,FOS,GATA3,GHSR,GJA1,XCR 1,HFE,HRH1,RBP1,IL1R1,IL1RN,IL2RA,IL5,IL5RA,IL 13,IL15,ITGA2,LGALS9,LTA4H,MAS1,NFKB1,NTSE, ORM1,SERPINE1,PIK3CA,PLA2G4A,PRCP,PTGER4, PTGIS,RORA,CCL1,SP100,XCL2,SYK,TLR2,TNFSF4, TYRO3,SCGB1A1,CXCR4,GPR68,TNFSF11,RIPK2,IL 18RAP,TNFSF18,PSTPIP1,IL1RL1,SLIT2,CHST2,ADM 2,HDAC9,TSPAN2,RASGRP1,TLR6,CXCL13,DUSP10 ,FOXP1,IL37,STK39,IL19,F11R,TLR9,PXK,NLRP2,IL3 6G,PROK2,CLEC7A,TNIP3,NOTCH1,NLRP3,PIK3AP1, IL23R,DAB2IP,RICTOR
193	10_Membro GO Processos Biológicos GO:1903034 regulação da resposta a ferimentos	-5,873285265 -3,830 64418	154,301,302,308,329,330,335,347,604,834 ,940,1236,1378,1839,1906,2054,2113,224 4,2625,2693,2697,3554,3559,3600,3673,4 142,4790,4907,5034,5035,5321,5728,5734 ,5740,6095,6239,6346,6846,6850,7048,70 97,7292,7294,7301,7356,8428,8573,8600,	ADRB2,ANXA1,ANXA2,ANXA5,BIRC2,BIRC3,APO A1,APOD,BCL6,CASP1,CD28,CCR7,CR1,HBEGF,ED N1,STX2,EFS1,FGB,GATA3,GHSR,GJA1,IL1R1,IL2R A,IL15,ITGA2,MAS1,NFKB1,NTSE,SERPINE1,SERPI NB2,PLA2G4A,PTEN,PTGER4,PTGIS,RORA,RREB1, CCL1,XCL2,SYK,TGFBR2,TLR2,TNFSF4,TXK,TYRO

200	10_Membro GO Processos Biológicos GO:0032101 regulação da resposta a estímulo externo	-5,439136868 -3,458 119927	8995,9173,9353,10855,11221,23122,2708 6,27347,54106,55576,80762,81606,84959, 114548,118788,253260	3,SCGB1A1,STK24,CASK,TNFSF11,TNFSF18,IL1RL1 ,SLIT2,HPSE,DUSP10,CLASP2,FOXP1,STK39,TLR9,S TAB2,NDFIP1,LBH,UBASH3B,NLRP3,PIK3AP1,RICT OR
			154,301,302,308,329,330,335,347,526,528 ,604,639,665,834,836,919,940,1230,1235, 1236,1240,1378,1435,1794,1906,1907,204 0,2054,2113,2185,2244,2246,2335,2534,2 625,2693,2697,3554,3559,3592,3600,3673 ,3965,4057,4142,4834,4790,4907,5054,50 55,5145,5305,5321,5654,5728,5734,5740, 5800,6095,6346,6480,6720,6846,6850,700 4,7048,7074,7097,7292,7294,7301,7356,7 424,7709,7852,8195,8428,8573,8600,8767 ,8787,8995,9173,9353,9447,9469,9844,99 82,10154,10221,10507,10563,10855,1122 1,23122,23369,23545,27086,27347,51606, 54106,55079,55576,56693,57763,57533,5 7556,60386,64218,80762,80763,81606,84 959,114548,118788,128866,149233,253260 ,340061	ADRB2,ANXA1,ANXA2,ANXA5,BIRC2,BIRC3,APO A1,APOD,ATP6V1B2,ATP6V1C1,BCL6,PRDM1,BNIP 3L,CASP1,CASP3,CD247,CD28,CCR1,CCR6,CCR7,C MKLR1,CR1,CSF1,DOCK2,EDN1,EDN2,STOM,SFX2, ETS1,PTK2B,FGB,FGF1,FN1,FYN,GATA3,GHSR,GIA 1,IL1R1,IL2RA,IL12A,IL15,ITGA2,LGALS9A,LTF,MAS 1,MTM1,NFKB1,NTSE,SERPINE1,SERPINB2,PDE6A, PIP4K2A,PLA2G4A,HTRA1,PTEN,PTGER4,PTGIS,PT PRO,RORA,CCL1,ST6GAL1,SREBF1,XCL2,SYK,TEA D4,TGFBR2,TIAM1,TLR2,TNFSF4,TNK,TYRO3,SCG B1A1,VEGFC,ZBTB17,CXCR4,MKKS,STK24,CASK, TNFSF11,RIPK2,RGS9,TNFSF18,IL1RL1,SLIT2,AIM2 ,CHST3,ELMO1,FGFBP1,PLXNC1,TRIB1,SEMA4D,C XCL13,HPSE,DUSP10,CLASP2,PUM2,ATP6V0A2,PO XP1,STK39,ATP6V1H,TLR9,PEZP2,STAB2,PACS1,E XOC1,TBC1D14,SEMA6A,SLC25A19,SEMA4A,NDFI P1,SPX,LBH,UBASH3B,NLRP3,PIK3AP1,CHMP4B,IL 23R,RICTOR,TMEM173
201	10_Membro GO Processos Biológicos GO:0050727 regulação da resposta inflamatória	-3,865579656 -2,164 44291	154,301,329,330,335,347,604,834,940,123 6,1378,2113,2625,2695,3554,3559,3600,3 673,4142,4790,4907,5054,5321,5734,5740 ,6095,6346,6846,7097,7292,7301,7356,80 00,8995,9173,9353,11221,27086,27347,54 106,80762,114548,118788,253260	ADRB2,ANXA1,BIRC2,BIRC3,APOA1,APOD,BCL6,C ASP1,CD28,CCR7,CR1,ETS1,GATA3,GHSR,IL3R1,IL 2RA,IL15,ITGA2,MAS1,NFKB1,NTSE,SERPINE1,PLA 2G4A,PTGER4,PTGIS,RORA,CCL1,XCL2,TLR2,TNFS F4,TYRO3,SCGB1A1,TNFSF11,TNFSF18,IL1RL1,SLI T2,DUSP10,FOXP1,STK39,TLR9,NDFIP1,NLRP3,PIK 3AP1,RICTOR
202	10_Membro GO Processos Biológicos GO:0032102 regulação negativa da resposta a estímulo externo	-3,851059669 -2,153 42274	154,302,308,335,347,639,1906,2113,2244, 2625,2693,2697,3559,4057,4534,4790,490 7,5054,5055,5654,5728,5734,5740,5800,6 095,6480,7301,8195,8573,9353,10221,105 07,10563,11221,23122,57556,64218,80716 2,80763,84959,114548,128866	ADRB2,ANXA2,ANXA5,APOA1,APOD,PRDM1,EDN 1,ETS1,FCGR,GATA3,GHSR,GJA1,IL2RA,LTF,MTM1, NFKB1,NTSE,SERPINE1,SERPINB2,HTRA1,PTEN,PT GER4,PTGIS,PTPRO,RORA,ST6GAL1,TYRO3,MKKS ,CASK,SLIT2,TRIB1,SEMA4D,CXCL13,DUSP10,CLA SP2,SEMA6A,SEMA4A,NDFIP1,SPX,UBASH3B,NLR P3,CHMP4B
203	10_Membro GO Processos Biológicos GO:1903035 regulação negativa da	-3,427768 8 -1,813 27158	154,302,308,335,347,1906,2113,2244,262 5,2693,2697,3559,4790,4907,5054,5055,5 734,5740,6095,7301,8573,9353,11221,231 22,80762,84959,114548	ADRB2,ANXA2,ANXA5,APOA1,APOD,EDN1,ETS1,F GB,GATA3,GHSR,GJA1,IL2RA,NFKB1,NTSE,SERPI NE1,SERPINB2,PTGER4,PTGIS,RORA,TYRO3,CASK ,SLIT2,DUSP10,CLASP2,NDFIP1,UBASH3B,NLRP3

	resposta a ferimentos			
204	10_Membro GO Processos Biológicos GO:0050728 regulação negativa da resposta inflamatória	-2,3400377257 -8,020 17/100	134,335,347,2113,2625,2693,3559,4790,4 907,5734,5740,6095,7301,9353,11221,807 62,114548	ADRB2,APOA1,APOD,ETS1,GATA3,GHSR,IL2RA,N FKB1,NT5E,PTGER4,PTGIS,RORA,TYRO3,SLIT2,DU SP10,NDFIP1,NLRP3
205	10_Membro GO Processos Biológicos GO:0031348 regulação negativa da resposta de defesa	-2,2837359191 -0,976 23/144	103,154,335,347,1378,2113,2625,2693,34 81,3559,3965,4790,4907,5654,5734,5740, 6095,7301,9353,11221,80762,114548	ADAR,ADRB2,APOA1,APOD,CR1,ETS1,GATA3,GHS R,IGF2,IL2RA,LGALS9,NFKBI1,NT5E,HTRA1,PTGER 4,PTGIS,RORA,TYRO3,SLIT2,DUSP10,NDFIP1,NLRP 3
206	11_Resumo GO Processos Biológicos GO:0030099 diferenciação de células mieloides	-7,6700783128 -5,301 60/333	103,302,537,604,814,836,841,861,942,102 1,1030,1230,1236,1435,1436,1437,1499,2 034,2113,2185,2353,2625,2672,3458,3516 ,3667,3624,3635,3965,4057,4208,5295,53 05,6670,7048,7049,7071,7704,8111,8600, 9290,9855,10100,10221,10296,10320,235 43,27086,28996,29939,51208,51621,5479 0,55904,80762,84456,84959,85477,11572 7,149233,301,1540,7292,8993	ADAR,ANXA2,ATP6AP1,BCL6,CAMK4,CASP3,CAS P8,RUNX1,CD86,CDK6,CDKN2B,CCR1,CCR7,CSF1, CSF1R,CSF2,CTNNB1,EPAS1,ETS1,PTK2B,FOS,GAT A3,GFI1,IFNG,RBPJ,IL5,INHBA,INPP5D,LGALS9,LT F,MEF2C,PIK3R1,PIP4K2A,SP3,TGFBR2,TGFBR3,KL F10,ZBTB16,GPR68,TNFSF11,GPR55,FARP2,TSPAN2 ,TRIB1,MAEA,IKZF1,RBFOX2,FOXP1,HIPK2,GPR17 1,CLDN18,KLF13,TET2,KMT2E,NDFIP1,L3MBTL3,U BASH3B,SCIN,RASGRP4,IL23R,ANXA1,CYLD,TNFS F4,TNFSF18
207	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0030099 diferenciação de células mieloides	-7,6700783128 -5,301 60/333	103,302,537,604,814,836,841,861,942,102 1,1030,1230,1236,1435,1436,1437,1499,2 034,2113,2185,2353,2625,2672,3458,3516 ,3667,3624,3635,3965,4057,4208,5295,53 05,6670,7048,7049,7071,7704,8111,8600, 9290,9855,10100,10221,10296,10320,235 43,27086,28996,29939,51208,51621,5479 0,55904,80762,84456,84959,85477,11572 7,149233	ADAR,ANXA2,ATP6AP1,BCL6,CAMK4,CASP3,CAS P8,RUNX1,CD86,CDK6,CDKN2B,CCR1,CCR7,CSF1, CSF1R,CSF2,CTNNB1,EPAS1,ETS1,PTK2B,FOS,GAT A3,GFI1,IFNG,RBPJ,IL5,INHBA,INPP5D,LGALS9,LT F,MEF2C,PIK3R1,PIP4K2A,SP3,TGFBR2,TGFBR3,KL F10,ZBTB16,GPR68,TNFSF11,GPR55,FARP2,TSPAN2 ,TRIB1,MAEA,IKZF1,RBFOX2,FOXP1,HIPK2,GPR17 1,CLDN18,KLF13,TET2,KMT2E,NDFIP1,L3MBTL3,U BASH3B,SCIN,RASGRP4,IL23R
208	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0002573 diferenciação de leucócitos mieloides	-6,8891353336 -4,636 39/187	302,537,814,841,861,942,1230,1236,1433, 1436,1437,1499,2353,2625,3458,3516,356 7,3624,3635,3965,4057,4208,5295,6670,7 048,7071,8111,8600,9290,9855,10100,102 21,27086,51208,55904,80762,84456,8495 9,149233	ANXA2,ATP6AP1,CAMK4,CASP8,RUNX1,CD86,CC R1,CCR7,CSF1,CSF1R,CSF2,CTNNB1,FOS,GATA3,IF NG,RBPJ,IL5,INHBA,INPP5D,LGALS9,LTF,MEF2C,P IK3R1,SP3,TGFBR2,KLF10,GPR68,TNFSF11,GPR55,F ARP2,TSPAN2,TRIB1,FOXP1,CLDN18,KMT2E,NDFI P1,L3MBTL3,UBASH3B,IL23R
209	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0002761 regulação da diferenciação	-6,0370012096 -3,962 26/108	537,814,841,861,1230,1435,1436,1499,23 53,3458,3567,3624,3635,4057,5295,7071, 8111,8600,9290,10221,27086,51208,5590 4,80762,84959,149233	ATP6AP1,CAMK4,CASP8,RUNX1,CCR1,CSF1,CSF1 R,CTNNB1,FOS,IFNG,IL5,INHBA,INPP5D,LTF,PIK3 R1,KLF10,GPR68,TNFSF11,GPR55,TRIB1,FOXP1,CL DN18,KMT2E,NDFIP1,UBASH3B,IL23R

	de leucócitos mielóides			
210	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0045670 regulação da diferenciação de osteoclastos	-5,494486602 -3,514 18/63	537,814,1230,1435,1436,1499,2353,3458, 3635,4057,5295,7071,8111,8600,9290,512 08,84959,149233	ATP6AP1,CAMK4,CCR1,CSF1,CSF1R,CTNNB1,FOS,I FNG,INPP5D,LTF,PIK3R1,KLF10,GPR68,TNFSF11,G PR35,CLDN18,UBASH3B,IL23R
211	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0045637 regulação da diferenciação de células mielóides	-5,343829348 -3,384 35/183	537,814,841,861,1021,1230,1435,1436,14 99,2113,2185,2353,3458,3567,3624,3635, 4057,4208,5295,7071,7704,8111,8600,929 0,10221,23543,27086,29909,51208,51621, 55904,80762,84959,85477,149233	ATP6AP1,CAMK4,CASP8,RUNX1,CDK6,CCR1,CSF1, CSF1R,CTNNB1,ETS1,PTK2B,FOS,IFNG,IL5,INHBA, INPP5D,LTF,MEF2C,PIK3R1,KLF10,ZBTB16,GPR68, TNFSF11,GPR55,TRIB1,RBPJOX2,FOXP1,GPR171,CL DN18,KLF13,KMT2E,NDFIP1,UBASH3B,SCIN,IL23R
212	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0010316 diferenciação de osteoclastos	-3,103829991 -3,179 21/86	302,537,814,1230,1435,1436,1499,2353,3 458,3635,4057,5295,7071,8111,8600,9290 ,9855,27086,51208,84959,149233	ANXA2,ATP6AP1,CAMK4,CCR1,CSF1,CSF1R,CTNN B1,FOS,IFNG,INPP5D,LTF,PIK3R1,KLF10,GPR68,TN FSF11,GPR55,PARP2,FOXP1,CLDN18,UBASH3B,IL2 3R
213	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0002763 regulação positiva da diferenciação de leucócitos mielóides	-4,963529231 -3,002 15/80	537,841,861,1230,1435,1436,2353,3458,3 567,7071,8111,8600,10221,55904,149233	ATP6AP1,CASP8,RUNX1,CCR1,CSF1,CSF1R,FOS,IF NG,IL5,KLF10,GPR68,TNFSF11,TRIB1,KMT2E,IL23R
214	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0045672 regulação positiva da diferenciação de osteoclastos	-4,899913681 -3,013 10/24	537,1230,1435,1436,2353,3458,7071,8111 ,8600,149233	ATP6AP1,CCR1,CSF1,CSF1R,FOS,IFNG,KLF10,GPR6 8,TNFSF11,IL23R
215	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0045639 regulação positiva da diferenciação de células mielóides	-4,415239056 -2,630 10/81	537,841,861,1230,1435,1436,2113,2353,3 458,3567,3624,3635,7071,8111,8600,8922 1,55904,85477,149233	ATP6AP1,CASP8,RUNX1,CCR1,CSF1,CSF1R,ETS1,F OS,IFNG,IL5,INHBA,INPP5D,KLF10,GPR68,TNFSF11 ,TRIB1,KMT2E,SCIN,IL23R
216	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0002762 regulação negativa da diferenciação de leucócitos mielóides	-3,040178303 -1,521 11/44	861,1499,3624,3635,4057,5295,8111,9290 ,10221,51208,84959	RUNX1,CTNNB1,INHBA,INPP5D,LTF,PIK3R1,GPR6 8,GPR55,TRIB1,CLDN18,UBASH3B
217	11_Membro GO Processos Biológicos	-2,869095413 -1,403	301,604,861,1499,1540,3624,3635,4057,5 295,7292,8111,8995,9290,10221,51208,84	ANXA1,BCL6,RUNX1,CTNNB1,CYLD,INHBA,INPP5 D,LTF,PIK3R1,TNFSF4,GPR65,TNFSF18,GPR35,TRIB

	GO:1902106 regulação negativa da diferenciação de leucócitos	16682	959	1,CLDN18,UBASH3B
218	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0043638 regulação negativa da diferenciação de células melóides	-2,7853063990 -1,319 16684	861,1021,1499,2185,3624,3635,4057,5295 ,7704,8111,9290,10221,29909,51208,51621,84959 1,84959	RUNX1,CDK6,CTNNB1,PTK2B,INHBA,INPP5D,LTF, PIK3R1,ZBTB16,GPR68,GPR35,TRIB1,GPR171,CLDN 18,KLF13,UBASH3B
219	11_Membro GO Processos Biológicos GO:1903707 regulação negativa da hemopoiese	-2,5753107107 -1,188 21/128	301,604,861,1021,1499,1540,2185,3624,3 635,4057,5295,7292,7704,8111,8995,9290 ,10221,29909,51208,51621,84959	ANXA1,BCL6,RUNX1,CDK6,CTNNB1,CYLD,PTK2B, INHBA,INPP5D,LTF,PIK3R1,INSIG1,ZBTB16,GPR68 ,TNFSF18,GPR35,TRIB1,GPR171,CLDN18,KLF13,UB ASH3B
220	11_Membro GO Processos Biológicos GO:0043671 regulação negativa da diferenciação de osteoclastos	-2,4066544493 -1,065 7/25	1499,3635,4057,5295,9290,51208,84959	CTNNB1,INPP5D,LTF,PIK3R1,GPR35,CLDN18,UBAS H3B
221	12_Resumo GO Processos Biológicos GO:0001816 produção de citocinas	-7,5444377793 -5,1888 96/630	284,301,329,330,335,347,558,604,814,834 ,861,914,940,942,943,965,1149,1236,1240 ,1436,1437,1499,1540,2335,2625,2693,30 77,3458,3516,3568,3592,3595,3596,3600, 3624,3635,3663,3702,3937,3965,4057,409 4,4773,4790,5004,5054,5142,5144,5295,5 591,5734,6095,6441,6504,6711,6850,6885 ,7097,7292,7294,7356,7520,8320,8651,87 10,8767,9173,9208,9308,9447,10125,1033 3,10666,10855,11148,23364,23607,26137, 26191,26287,27086,27297,28951,29949,5 0848,54106,54286,55122,55055,57162,80 762,114548,149233,192683,340061,308,3 22,777,1946,2244,2697,2864,3033,3382,3 479,3567,3708,3709,3783,4082,5122,5289 ,5567,6720,7074,7424,8111,8660,55763,8 0024,399687,537,1808,1906,2668,2692,38 14,5021,8600,9146,23122,56729,57829,13 1076,54843,84236,85477	ANGPT1,ANXA1,BIRC2,BIRC3,APOA1,APOD,AXL, BCL6,CAMK4,CASP1,RUNX1,CD2,CD28,CD86,TNF RSF8,CD58,CIDEA,CCR7,CMKLR1,CSF1R,CSF2,CT NNB1,CYLD,FN1,GATA3,GHSR,FFE,IFNG,RBP4,IL5 RA,IL12A,IL12RB2,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,IRF5,I TK,LCP2,LGALS9,LTF,MAF,NFATC2,NFKB1,ORM1, SERPINE1,PDE4B,PDE4D,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,R ORA,SFTPD,SLAMF1,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TLR2,T NFSF4,TXK,SCGB1A1,XRCC5,EOMES,SOCS1,SERPI NB7,RIPK2,ILIRL1,LRRFIP1,CD83,AIM2,RASGRP1, TLR6,CD226,HPSE,HHLA2,PLXM2,CD2AP,ZBTB20,P TPN22,ANKRD2,FOXP1,CRCP,TRIB2,IL19,F11R,TLR 9,LERFF11,AKIRIN2,NLRP2,PELI1,NEDD9P1,NLRP3,IL2 3R,SCAMP5,TMEM173,ANXA5,APBB1,CACNA1E FNA5,FGB,GIAI,FFAR1,RADIL,ICA1,IGFF1,IL3,ITPR1 JTPR2,KCNN4,MARCKS,PCSK1,PIK3C3,PRKACB,S REBF1,TIAM1,VEGFC,GPR68,IRS2,EXOC1,SLC8B1, MYO18A,ATP6AP1,DPYSL2,EDN1,GDNF,GHRHR,K ISS1,OXTR,TNFSF11,HGS,CLASP2,RETN,ZP4,PLB1, SYTL2,RHBDD1,SCIN
222	12_Membro	-7,5444377793	284,301,329,330,335,347,558,604,814,834	ANGPT1,ANXA1,BIRC2,BIRC3,APOA1,APOD,AXL,

	GO Processos Biológicos GO:0001816 produção de citocinas	-5,188 95%CI	,866,914,940,942,943,965,1149,1236,1240 ,1436,1437,1499,1540,2335,2625,2693,30 77,3458,3516,3568,3592,3595,3596,3660, 3624,3635,3663,3702,3937,3965,4037,409 4,4773,4790,5004,5054,5142,5314,5295,5 591,5734,6095,6441,6504,6711,6850,6885 ,7097,7292,7294,7356,7520,8320,8651,87 10,8767,9173,9208,9308,9447,10125,1033 3,10866,10855,11148,23369,23607,26137, 26191,26287,27086,27297,28951,29949,5 0848,54106,54206,55122,55655,57162,80 762,114548,149233,192683,340061	BCL6,CAMK4,CASP1,RUNX1,CD2,CD28,CD86,TNF RSF8,CD58,CIDEA,CCR7,CMKLR1,CSF1R,CSF2,CT NNB1,CYLD,FN1,GATA3,GHSR,HPE,IFNG,RBPJ,IL5 RA,IL12A,IL12RB2,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,IRF5,I TK,LCP2,LGALS9,LTF,MAF,NFATC2,NFKB1,ORM1, SERPINE1,PDE4B,PDE4D,PIK3R1,PRKDC,PTGER4,R ORA,SFTPD,SLAMF1,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TLR2,T NFSF4,TXK,SCGB1A1,ARCC5,EOMES,SOCS1,SERPI NB7,RIPK2,IL1RL1,LRRTM3,CD83,AIM2,RASGRP1, TLR6,CD226,HPSE,HHLA2,PUM2,CD2AP,ZBTB20,P TPN22,ANKRD2,FOXP1,CRCP,TRIB2,IL19,P11R,TLR 9,ERRFI1,AKIRIN2,NLRP2,PELI1,NDFIP1,NLRP3,IL2 3R,SCAMP5,TMEM173
223	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0001817 regulação da produção de citocinas	-6,864047795 -4,622 86/571	284,301,329,330,335,347,558,604,834,861 ,914,940,942,943,965,1149,1236,1240,143 6,1437,1499,1540,2335,2625,2693,3077,3 458,3568,3592,3595,3596,3660,3624,3635 ,3663,3965,4057,4790,5004,5054,5142,51 44,5295,5591,5734,6095,6441,6504,6711, 6850,6885,7097,7292,7294,7356,7520,865 1,8710,8767,9173,9208,9308,9447,10125, 10333,10855,11148,23369,23607,26137,2 6191,26287,27086,27297,28951,30848,34 106,54206,55122,55655,57162,80762,114 548,149233,192683,340061	ANGPT1,ANXA1,BIRC2,BIRC3,APOA1,APOD,AXL, BCL6,CASP1,RUNX1,CD2,CD28,CD86,TNFRSF8,CD 58,CIDEA,CCR7,CMKLR1,CSF1R,CSF2,CTNNB1,CY LD,FN1,GATA3,GHSR,HPE,IFNG,IL5RA,IL12A,IL12 RB2,IL13,IL15,INHBA,INPP5D,IRF5,LGALS9,LTF,NF KB1,ORM1,SERPINE1,PDE4B,PDE4D,PIK3R1,PRKD C,PTGER4,RORA,SFTPD,SLAMF1,SPTBN1,SYK,MA P3K7,TLR2,TNFSF4,TXK,SCGB1A1,XRCC5,SOCS1,S ERPINB7,RIPK2,IL1RL1,LRRFIP1,CD83,AIM2,RASG RP1,TLR6,HPSE,HHLA2,PUM2,CD2AP,ZBTB20,PTP N22,ANKRD2,FOXP1,CRCP,TRIB2,P11R,TLR9,ERRF I1,AKIRIN2,NLRP2,PELI1,NDFIP1,NLRP3,IL23R,SC AMP5,TMEM173
224	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0050707 regulação da secreção de citocinas	-5,131517228 -3,199 30/149	284,301,335,834,914,963,1149,1236,1438, 2335,2625,3458,3965,5734,6504,6711,685 0,7097,7292,8651,9173,9447,10125,10333 ,26191,27086,54106,55655,114548,19268 3	ANGPT1,ANXA1,APOA1,CASP1,CD2,CD58,CIDEA,C CR7,CSF1R,FN1,GATA3,IFNG,LGALS9,PTGER4,SLA MF1,SPTBN1,SYK,TLR2,TNFSF4,SOCS1,IL1RL1,AI M2,RASGRP1,TLR6,PTPN22,FOXP1,TLR9,NLRP2,NL RP3,SCAMP5
225	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0001819 regulação positiva da produção de citocinas	-5,029864207 -3,112 60/397	301,329,330,834,861,914,940,942,943,965 ,1236,1436,1437,1499,2625,3458,3592,35 95,3596,3600,3663,3965,4790,5054,5142, 5144,5295,5591,5734,6095,6504,6711,685 0,6885,7097,7292,7294,7520,8710,8767,9 173,9208,9308,9447,10125,10333,10855,1 1148,23369,26137,26191,27297,54106,55 122,55655,57162,114548,149233,192683, 340061	ANXA1,BIRC2,BIRC3,CASP1,RUNX1,CD2,CD28,CD 86,TNFRSF8,CD58,CCR7,CSF1R,CSF2,CTNNB1,GAT A3,IFNG,IL12A,IL12RB2,IL13,IL15,IRF5,LGALS9,NF KB1,SERPINE1,PDE4B,PDE4D,PIK3R1,PRKDC,PTG ER4,RORA,SLAMF1,SPTBN1,SYK,MAP3K7,TLR2,T NFSF4,TXK,XRCC5,SERPINB7,RIPK2,IL1RL1,LRRFI P1,CD83,AIM2,RASGRP1,TLR6,HPSE,HHLA2,PUM2, ZBTB20,PTPN22,CRCP,TLR9,AKIRIN2,NLRP2,PELI1 ,NLRP3,IL23R,SCAMP5,TMEM173

226	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0050663 secreção de citocinas	-4,8499110896 -2,977 32/169	284,301,335,834,914,965,1449,1236,1436, 2335,2625,3458,3518,3937,3965,5734,650 4,60711,6850,7097,7292,8631,9173,9447,1 0125,10333,26191,27086,34106,55655,11 4548,192683	ANGPT1,ANXA1,APOA1,CASP1,CD2,CD58,CIDEA,C CR7,CSF1R,EN1,GATA3,IFNG,RBP1,LCP2,LGALS9,P TGER4,SLAMF1,SPTBN1,SYK,TLR2,TNFSF4,SOCS1, IL3RL1,AIM2,RASGRP1,TLR6,PTPN22,FOXP1,TLR9, NLRP2,NLRP3,SCAMP5
227	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0001818 regulação negativa da produção de citocinas	-4,5311445115 -2,712 37/215	284,301,335,347,558,604,1449,1240,1540, 2335,2625,2693,3077,3458,3592,3596,362 4,3635,3965,4057,4790,5004,5734,6441,6 504,7292,7356,9173,9308,23607,26191,28 951,54106,54306,80762,114548,149233	ANGPT1,ANXA1,APOA1,APOD,AXL,BCL6,CIDEA,C MKLR1,CYLD,FN1,GATA3,GHSR,HFE,IFNG,IL12A,I L13,INHBA,INPP5D,LGALS9,LTF,NFKB1,ORM1,PT GER4,SFTPD,SLAMF1,TNFSF4,SCGB1A1,IL1RL1,C D83,CD2AP,PTPN22,TRIB2,TLR9,EBI3,RTN1,NDFIP1,N LRP3,IL23R
228	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0050708 regulação da secreção de proteínas	-4,1693480112 -2,412 58/406	284,301,308,322,335,777,834,914,963,114 9,1236,1436,1946,2244,2335,2625,2693,2 697,2864,3033,3382,3458,3479,3567,3596 ,3708,3709,3783,3965,4082,5122,5289,55 67,5734,6504,6711,6720,6850,7024,7097, 7292,7424,8111,8651,8660,9173,9447,101 25,10333,26191,27086,54106,55655,5576 3,80024,114548,192683,399687	ANGPT1,ANXA1,ANXA5,APEH,APOA1,CACNA1E, CASP1,CD2,CD58,CIDEA,CCR7,CSF1R,EFNA5,FGB, FN1,GATA3,GHSR,GJA1,FFAR1,HADH,ICA1,IFNG,I GF1,IL5,IL13,ITPR1,ITPR2,KCNN4,LGALS9,MARCK S,PCSK1,PIK3C3,PRKACB,PTGER4,SLAMF1,SPTBN 1,SREBF1,SYK,TIAM1,TLR2,TNFSF4,VEGFC,GPR68 ,SOCS1,IRS2,IL1RL1,AIM2,RASGRP1,TLR6,PTPN22, FOXP1,TLR9,NLRP2,EXOC1,SLC8B1,NLRP3,SCAMP 5,MYO18A
229	12_Membro GO Processos Biológicos GO:1903532 regulação positiva da secreção por célula	-3,2349039? -1,664 47/338	322,537,834,914,965,1436,1808,1906,224 4,2625,2668,2692,2697,2864,3077,3458,3 479,3567,3596,3624,3783,3814,3965,5021 ,5734,6504,6711,6850,7292,7424,8111,86 00,8660,9146,9173,9447,10125,23122,261 91,55655,55762,56729,57829,114548,151 056,192683,399687	APBB1,ATP6AP1,CASP1,CD2,CD58,CSF1R,DPYSL2, EDN1,FGB,GATA3,GDNF,GHRHR,GJA1,FFAR1,HFE ,IFNG,IGF1,IL5,IL13,INHBA,KCNN4,KISS1,LGALS9, OXTR,PTGER4,SLAMF1,SPTBN1,SYK,TNFSF4,VEGF FC,GPR68,TNFSF11,IRS2,HGS,IL1RL1,AIM2,RASGR P1,CLASP2,PTPN22,NLRP2,EXOC1,RETN,ZP4,NLRP 3,PLB1,SCAMP5,MYO18A
230	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0051047 regulação positiva da secreção	-3,1966223615 -1,640 50/367	322,537,834,914,965,1436,1808,1906,224 4,2625,2668,2692,2697,2864,3077,3458,3 479,3567,3596,3624,3783,3814,3965,5021 ,5734,6504,6711,6850,7292,7424,8111,86 00,8660,9146,9173,9447,10125,23122,261 91,54843,55655,55763,56729,57829,8423 6,85477,114548,151056,192683,399687	APBB1,ATP6AP1,CASP1,CD2,CD58,CSF1R,DPYSL2, EDN1,FGB,GATA3,GDNF,GHRHR,GJA1,FFAR1,HFE ,IFNG,IGF1,IL5,IL13,INHBA,KCNN4,KISS1,LGALS9, OXTR,PTGER4,SLAMF1,SPTBN1,SYK,TNFSF4,VEG FC,GPR68,TNFSF11,IRS2,HGS,IL1RL1,AIM2,RASGR P1,CLASP2,PTPN22,SYTL2,NLRP2,EXOC1,RETN,ZP 4,RHBDD1,SCIN,NLRP3,PLB1,SCAMP5,MYO18A
231	12_Membro GO Processos Biológicos GO:0090714 regulação positiva da secreção de proteínas	-3,0739277385 -1,549 32/209	322,834,914,963,1436,2244,2625,2697,28 64,3458,3479,3567,3596,3783,3965,3734, 6504,6711,6850,7292,7424,8111,8660,917 3,9447,10125,26191,55655,55763,114548, 192683,399687	APBB1,CASP1,CD2,CD58,CSF1R,FGB,GATA3,GJA1, FFAR1,IFNG,IGF1,IL5,IL13,KCNN4,LGALS9,PTGER 4,SLAMF1,SPTBN1,SYK,TNFSF4,VEGFC,GPR68,IRS 2,IL1RL1,AIM2,RASGRP1,PTPN22,NLRP2,EXOC1,N LRP3,SCAMP5,MYO18A
232	12_Membro	-2,9457016662	834,914,963,1436,2625,3458,3965,5734,6	CASP1,CD2,CD58,CSF1R,GATA3,IFNG,LGALS9,PTG

	GO Processos Biológicos GO:0050715 regulação positiva da secreção de citocinas	-1,455 18/96	504,6711,6850,9173,9447,10125,26191,55 658,114548,192683	ER4,SLAMF1,SPTBN1,SYK,ILIRL1,AIM2,RASGRP1, PTPN22,NLRP2,NLRP3,SCAMP5
233	13_ Resumo Conjuntos de Genes Hallmark M5942 HALLMARK RN EM RESPOSTA A UV	-7,461587051 -5,112 34/144	302,323,493,594,861,2534,2697,2908,303 7,3382,3397,3638,3778,4092,4790,4833,5 054,5332,5728,5922,6310,6383,7035,7048 ,7049,8553,8621,8821,8997,10000,10395, 19659,23266,26037	ANXA2,APBB2,ATP2B4,BCKDHB,RUNX1,FYN,GJA 1,NR3C1,HAS2,ICA1,ID1,INSIG1,KCNMA1,SMAD7, NFKB1,NOTCH2,SERPINE1,P_CB4,PTEN,RASA2,AT XN1,SDC2,TFP1,TGFBR2,TGFBR3,BHLHE40,CDK13, INPP4B,KALRN,AKT3,DLC1,CELF2,ADGRL2,SIPA1 L1
234	13_ Membro Conjuntos de Genes Hallmark M5942 HALLMARK RN EM RESPOSTA A UV	-7,461587051 -5,112 34/144	302,323,493,594,861,2534,2697,2908,303 7,3382,3397,3638,3778,4092,4790,4833,5 054,5332,5728,5922,6310,6383,7035,7048 ,7049,8553,8621,8821,8997,10000,10395, 19659,23266,26037	ANXA2,APBB2,ATP2B4,BCKDHB,RUNX1,FYN,GJA 1,NR3C1,HAS2,ICA1,ID1,INSIG1,KCNMA1,SMAD7, NFKB1,NOTCH2,SERPINE1,P_CB4,PTEN,RASA2,AT XN1,SDC2,TFP1,TGFBR2,TGFBR3,BHLHE40,CDK13, INPP4B,KALRN,AKT3,DLC1,CELF2,ADGRL2,SIPA1 L1
235	14_ Resumo GO Processos Biológicos GO:0051241 regulação negativa de processo de organismos multicelulares	-7,262007047 -4,943 133/985	154,284,301,302,308,335,347,356,374,476 ,493,558,596,604,753,861,942,1021,1149, 1230,1240,1393,1407,1499,1540,1831,190 6,2146,2185,2244,2296,2335,2625,2672,2 693,2697,2796,3077,3397,3458,3479,3516 ,3592,3596,3624,3635,3688,3965,4000,40 57,4092,4208,4435,4488,4790,5004,5021, 5054,5055,5142,5144,5295,5567,5641,572 8,5734,5793,5800,6423,6441,6504,6653,6 672,6772,7048,7292,7356,7476,7490,7498 ,7704,7843,8111,8626,8898,8994,8995,91 73,9290,9308,9353,10140,10221,10507,10 539,10549,10563,11223,22856,23882,236 07,35871,36191,27347,28951,29116,2999 9,30812,31208,51316,51621,54106,54206, 55079,55223,55755,57534,57556,64218,8 0005,80014,80762,80763,81618,84959,85 458,90627,114548,149233,152559,153000 ,162314,235738	ADRB2,ANGPT1,ANXA1,ANXA2,ANXA5,APOA1,A POD,FASLG,AREG,ATP1A1,ATP2B4,AXL,BCL2,BC L6,LDLRAD4,RUNX1,CD86,CDK6,CIDEA,CCR1,CM KLR1,CRHBP,CRY1,CTNNB1,CYLD,TSC22D3,EDN1 EZH2,FTK2B,FGB,FOXC1,FN1,GATA3,GFT1,GHSR, GJA1,GNRH1,HFE,ID1,IFNG,IGF1,IRP3,IL12A,IL13,I NHBA,INPP5D,ITGB1,LGALS1,LMNA,LTF,SMAD7, MEF2C,CTTED1,MSX2,NFKB1,ORM1,OXTR,SERPIN E1,SERPINB2,PDE4B,PDE4D,PIK3R1,PRKACB,LGM N,PTEN,PTGER4,PTPRG,PTPRO,SFRP2,SFTPD,SLA MF1,SOKL1,SP100,STAT1,TGFBR2,TNFSF4,SCGB1A 1,WNT7A,WT1,XDH,ZBTB16,PAX8,GPR66,TP63,MT MR2,LIMD1,TNFSF18,ILIRL1,GPR55,CD83,SLIT2,T OB1,TRIB1,SEMA4D,GLRX3,PRDX4,CXCL13,DUSP 10,CHSY1,ZHX2,CD2AP,C3orf17,PTPN22,STK39,TRI B2,MYLIP,GPR177,SOX8,CLEC18,PLAC8,KLF13,TL R9,ERRFI1,FEZF2,TRIM62,CEKSRAP2,MIB1,SEMA6 A,SEMA4A,DOCK5,WWC2,NDFIP1,SPX,ITM2C,UBA SH3B,DIXDC1,STARD13,NLRP3,IL23R,PAQR3,DAB 2IP,TRPV3,PCSK9
236	14_ Membro GO Processos Biológicos GO:0051241 regulação negativa de	-7,262007047 -4,943 133/985	154,284,301,302,308,335,347,356,374,476 ,493,558,596,604,753,861,942,1021,1149, 1230,1240,1393,1407,1499,1540,1831,190 6,2146,2185,2244,2296,2335,2625,2672,2	ADRB2,ANGPT1,ANXA1,ANXA2,ANXA5,APOA1,A POD,FASLG,AREG,ATP1A1,ATP2B4,AXL,BCL2,BC L6,LDLRAD4,RUNX1,CD86,CDK6,CIDEA,CCR1,CM KLR1,CRHBP,CRY1,CTNNB1,CYLD,TSC22D3,EDN1

	processo de organismos multicelulares		693,2697,2796,3077,3397,3458,3479,3516,3592,3596,3624,3633,3688,3963,4000,4057,4092,4208,4435,4488,4790,5004,5021,5054,5055,5142,5144,5295,5567,5641,5728,5734,5793,5800,6423,6441,6504,6633,6672,6772,7048,7292,7356,7476,7490,7498,7704,7849,8111,8626,8898,8994,8995,9173,9290,9408,9353,10140,10221,10507,10539,10549,10563,11221,22856,22882,23607,25871,26191,27347,28951,29116,29903,30812,51208,51316,51621,54106,54206,55079,55223,55755,57534,57556,64218,80003,80014,80762,80763,81618,84959,85458,90627,114548,149233,152559,153090,163514,255738	EZH2,PTK2B,FGB,FOXC1,FN1,GATA3,GPT1,GHSR,GJA1,GNRH1,HFE,ID3,IFNG,EGF,RBPJL,IL12A,IL13,NHBA,INPP5D,ITGB1,LGALS9,LMNA,LTF,SMAD7,MEF2C,CITED1,MSX2,NFKB1,ORM1,OXTR,SERPINE1,SERPINB2,PDE4B,PDE4D,PIK3R1,PRKACB,LGMN,PTEN,PTGER4,PTPRC,PTPRO,SFRP2,SFTPD,SLA,MF1,SORL1,SP100,STAT1,TGFBR2,TNFSF4,SCGB1A1,WNT7A,WT1,XDH,ZBTB16,PAX8,GPR68,TP63,MTMR2,LIMD1,TNFSF18,IL1RL1,GPR55,CD83,SLIT2,TOB1,TRIB1,SEMA4D,GLRX3,PRDX4,CXCL13,DUSP10,CHSY1,ZHX2,CD2AP,C3orf17,PTPN22,STK39,TRIB2,MYLIP,GPR171,SOX8,CLEC18,PLAC8,KLF13,TLR9,ERRFI1,FEZF2,TRIM62,CEKSRAP2,MIB1,SEMA6A,SEMA4A,DOCK5,WWC2,NDFIP1,SPX,ITM2C,UBASH3B,DIXDC1,STARD13,NLRP3,IL23R,PAQR3,DAB2IP,TRPV3,PCSK9
237	15_ Resumo GO Processos Biológicos GO:0048514 morfogênese de vasos sanguíneos	-7,117296743 -4,838 771486	154,284,302,347,356,639,677,688,861,123 2,14499,1936,1960,2028,2034,2113,23185,2 246,2296,2335,2697,3037,3397,3516,3688 ,3716,3911,4092,4313,4435,4897,5054,52 90,5547,5579,5728,5734,5740,5921,6095, 6423,6461,6672,6733,6772,6850,7048,742 4,7476,7490,7498,8828,9353,9369,9394,9 734,10267,10352,10451,10563,10672,108 55,10908,11082,25976,28996,55576,6007 5,64218,79623,83605,90627,92140,14685 0,153090,168667,284340,4208,4693,5784, 7798,8061,8710,54206,57534,79639	ADRB2,ANGPT1,ANXA2,APOD,FAS1,G,PRDM1,ZFP36L1,KLF5,RUNX1,CCR3,CTNNB1,EDN1,EGR3,ENPEP,EPAS1,ETS1,PTK2B,FGF1,FOXC1,FN1,GJA1,HAS2,ID1,RBP3,ITGB1,JAK1,LAMA5,SMAD7,MMP2,CITED1,NRCAM,SERPINE1,PIK3CA,PRCP,PRKCB,PTEN,PTGER4,PTGIS,RASA1,RORA,SFRP2,SHB,SP100,SRPK2,STAT1,SYK,TGFBR2,VEGFC,WNT7A,WT1,XDH,ENRP2,SLIT2,NRXN3,HS6ST1,HDAC9,RAMP1,WARP,HIPK2,STAB2,PROK2,SEMA4A,NDNF,CCM2,STARD13,MTDH,PIK3R6,DAB2IP,BMPER,CXCL17,MEF2C,NDP,PTPN14,LUZP1,FOSL1,SERPINB7,ERRFI1,MIB1,DYNC2H1
238	15_ Membro GO Processos Biológicos GO:0048514 morfogênese de vasos sanguíneos	-7,117296743 -4,838 771486	154,284,302,347,356,639,677,688,861,123 2,14499,1936,1960,2028,2034,2113,23185,2 246,2296,2335,2697,3037,3397,3516,3688 ,3716,3911,4092,4313,4435,4897,5054,52 90,5547,5579,5728,5734,5740,5921,6095, 6423,6461,6672,6733,6772,6850,7048,742 4,7476,7490,7498,8828,9353,9369,9394,9 734,10267,10352,10451,10563,10672,108 55,10908,11082,25976,28996,55576,6007 5,64218,79623,83605,90627,92140,14685 0,153090,168667,284340	ADRB2,ANGPT1,ANXA2,APOD,FAS1,G,PRDM1,ZFP36L1,KLF5,RUNX1,CCR3,CTNNB1,EDN1,EGR3,ENPEP,EPAS1,ETS1,PTK2B,FGF1,FOXC1,FN1,GJA1,HAS2,ID1,RBP3,ITGB1,JAK1,LAMA5,SMAD7,MMP2,CITED1,NRCAM,SERPINE1,PIK3CA,PRCP,PRKCB,PTEN,PTGER4,PTGIS,RASA1,RORA,SFRP2,SHB,SP100,SRPK2,STAT1,SYK,TGFBR2,VEGFC,WNT7A,WT1,XDH,ENRP2,SLIT2,NRXN3,HS6ST1,HDAC9,RAMP1,WARP,HIPK2,STAB2,PROK2,SEMA4A,NDNF,CCM2,STARD13,MTDH,PIK3R6,DAB2IP,BMPER,CXCL17

239	15_Membro GO Processos Biológicos GO:0001944 desenvolvimento da vasculatura	-6,212064154 -4,090 86/591	154,284,302,347,356,639,677,688,861,123 2,1499,1906,1960,2028,2034,2113,2185,2 246,2296,2335,2697,3037,3397,3516,3688 ,3716,3911,4092,4208,4313,4435,4693,48 97,5054,5290,5547,5579,5728,5734,5740, 5784,5923,6095,6423,6461,6672,6733,677 2,6850,7048,7424,7476,7490,7498,7798,8 061,8710,8828,9353,9369,9394,9734,1026 7,10352,10451,10563,10672,10855,10908, 11082,25978,28996,54206,55576,57534,6 0675,64218,79625,79659,83605,90627,92 140,146850,153090,168667,284340	ADRB2,ANGPT1,ANXA2,APOD,FASLG,PRDM1,ZFP 36L1,KLF5,RUNX1,CCR3,CTNNB1,EDN1,EGR3,ENP EP,EPAS1,ETS1,PTK2B,FGF1,FOXC1,FN1,GJA1,HAS 2,ID1,RBPJ,ITGB1,JAK1,LAMA5,SMAD7,MEF2C,M MP2,CITED1,NDP,NRCAM,SERPINE1,PIK3CA,PRCP ,PRKCB,PTEN,PTGER4,PTGIS,PTPN14,RASA1,ROR A,SFRP2,SHB,SP100,SRPK2,STAT1,SYK,TGFBR2,VE GFC,WNT7A,WT1,XDH,LUZP1,FOSL1,SERPINB7,N RP2,SLIT2,NRXN3,HS6ST1,HDAC9,RAMP1,WARS2, VAV3,CXCL13,GNA13,HPSE,PNPLA6,ESM1,TIPARP ,HIPK2,ERRFI1,STAB2,MIB1,PROK2,SEMA4A,NDN F,DYNC2H1,CCM2,STARD13,MTDH,PIK3R6,DAB2I P,BMPER,CXCL17
240	15_Membro GO Processos Biológicos GO:0001568 desenvolvimento de vasos sanguíneos	-5,997825385 -3,936 83/571	154,284,302,347,356,639,677,688,861,123 2,1499,1906,1960,2028,2034,2113,2185,2 246,2296,2335,2697,3037,3397,3516,3688 ,3716,3911,4092,4208,4313,4435,4897,50 54,5290,5547,5579,5728,5734,5740,5921, 6095,6423,6461,6672,6733,6772,6850,704 8,7424,7476,7490,7498,7798,8061,8710,8 828,9353,9369,9394,9734,10267,10352,10 451,10563,10672,10855,10908,11082,259 76,28996,55576,57534,60675,64218,7962 5,79659,83605,90627,92140,146850,1530 90,168667,284340	ADRB2,ANGPT1,ANXA2,APOD,FASLG,PRDM1,ZFP 36L1,KLF5,RUNX1,CCR3,CTNNB1,EDN1,EGR3,ENP EP,EPAS1,ETS1,PTK2B,FGF1,FOXC1,FN1,GJA1,HAS 2,ID1,RBPJ,ITGB1,JAK1,LAMA5,SMAD7,MEF2C,M MP2,CITED1,NRCAM,SERPINE1,PIK3CA,PRCP,PRK CB,PTEN,PTGER4,PTGIS,RASA1,ROBA,SFRP2,SHB, SP100,SRPK2,STAT1,SYK,TGFBR2,VEGFC,WNT7A, WT1,XDH,LUZP1,FOSL1,SERPINB7,NRP2,SLIT2,NR XN3,HS6ST1,HDAC9,RAMP1,WARS2,VAV3,CXCL1 3,GNA13,HPSE,PNPLA6,ESM1,TIPARP,HIPK2,STAB 2,MIB1,PROK2,SEMA4A,NDNF,DYNC2H1,CCM2,ST ARD13,MTDH,PIK3R6,DAB2IP,BMPER,CXCL17
241	15_Membro GO Processos Biológicos GO:0001525 angiogênese	-5,618070657 -3,623 64/415	154,284,302,347,356,688,861,1232,1499,1 906,1960,2028,2034,2113,2185,2246,2296 ,2335,3397,3516,3688,3716,3911,4313,48 97,5054,5290,5547,5579,5728,5740,6095, 6423,6461,6672,6733,6772,6850,7048,742 4,7476,8828,9353,9369,9394,9734,10267, 10451,10563,10672,10855,10908,11082,2 8996,55576,60675,64218,79625,90627,92 140,146850,153090,168667,284340	ADRB2,ANGPT1,ANXA2,APOD,FASLG,KLF5,RUNX 1,CCR3,CTNNB1,EDN1,EGR3,ENPEP,EPAS1,ETS1,P TK2B,FGF1,FOXC1,FN1,ID1,RBPJ,ITGB1,JAK1,LAM A5,MMP2,NRCAM,SERPINE1,PIK3CA,PRCP,PRKCB ,PTEN,PTGIS,RORA,SFRP2,SHB,SP100,SRPK2,STAT 1,SYK,TGFBR2,VEGFC,WNT7A,NRP2,SLIT2,NRXN3 ,HS6ST1,HDAC9,RAMP1,VAV3,CXCL13,GNA13,HPS E,PNPLA6,ESM1,HIPK2,STAB2,PROK2,SEMA4A,ND NF,STARD13,MTDH,PIK3R6,DAB2IP,BMPER,CXCL 17
242	15_Membro GO Processos Biológicos GO:1901342 regulação do desenvolvimento da vasculatura	-2,339487575 -1,015 32/232	154,356,861,1232,1499,2113,2185,2246,2 296,3397,3716,5054,5579,5734,5740,6423 ,6672,6772,7048,7424,7490,7498,8710,97 34,10563,28996,60675,64218,90627,9214 0,146850,153090	ADRB2,FASLG,RUNX1,CCR3,CTNNB1,ETS1,PTK2B ,FGF1,FOXC1,ID1,JAK1,SERPINE1,PRKCB,PTGER4, PTGIS,SFRP2,SP100,STAT1,TGFBR2,VEGFC,WT1,X DH,SERPINB7,HDAC9,CXCL13,HIPK2,PROK2,SEM A4A,STARD13,MTDH,PIK3R6,DAB2IP

243	16_Resumo Vias Canonical M60 PID VIA TF NFAT	-6,853267689 -4,622 17/47	356,836,1437,1959,1960,2353,2625,3458, 3559,3567,4094,4772,4773,5770,8061,103 20,30009,919,925,940,2534,3702,3937,47 90,5063,5290,5295,6885,8440,9402,10000 ,10125,10451,29851,1499,1906,2099,2113 ,2697,2908,4602,5728,10018,3442,5551,5 579,8320,2185,3384,3824,4068,6850,8743	FASLG,CASP3,CSF2,EGR2,EGR3,FOS,GATA3,IFNG, IL2RA,IL5,MAF,NFATC1,NFATC2,PTPN1,FOSL1,IK ZF1,TBX21,CD247,CD8A,CD28,FYN,ITK,LCP2,NFK B1,PAK3,PIK3CA,PIK3R1,MAP3K7,NCK2,GRAP2,A KT3,RASGRP1,VAV3,ICOS,CTNNB1,EDN1,ESR1,ET S1,GIA1,NR3C1,MYB,PTEN,BCL2L11,IFNA5,PRF1,P RKCB,EOMES,PTK2B,ICAM2,KLRD1,SH2D1A,SYK, TNFSF10
244	16_Membro Vias Canonical M60 PID VIA TF NFAT	-6,853267689 -4,622 17/47	356,836,1437,1959,1960,2353,2625,3458, 3559,3567,4094,4772,4773,5770,8061,103 20,30009	FASLG,CASP3,CSF2,EGR2,EGR3,FOS,GATA3,IFNG, IL2RA,IL5,MAF,NFATC1,NFATC2,PTPN1,FOSL1,IK ZF1,TBX21
245	16_Membro Via KEGG hsa04660 via de sinalização de receptores de células T	-4,762988786 -2,907 23/104	919,925,940,1437,2353,2534,3458,3567,3 702,3937,4772,4773,4790,5063,5290,5295 ,6885,8440,9402,10000,10125,10451,2985 1	CD247,CD8A,CD28,CSF2,FOS,FYN,IFNG,IL5,ITK,LC P2,NFATC1,NFATC2,NFKB1,PAK3,PIK3CA,PIK3R1, MAP3K7,NCK2,GRAP2,AKT3,RASGRP1,VAV3,ICOS
246	16_Membro Vias Canonical M167 PID VIA AP1	-4,217178207 -2,446 17/70	1437,1499,1906,2099,2113,2353,2697,290 8,3458,3567,4094,4602,4772,4773,5728,8 061,10018	CSF2,CTNNB1,EDN1,ESR1,ETS1,FOS,GIA1,NR3C1,I FNG,IL5,MAF,MYB,NFATC1,NFATC2,PTEN,FOSL1, BCL2L11
247	16_Membro Vias Canonical M235 PID VIA CÁLCIO TCR	-2,638008071 -1,235 8/29	356,1437,2353,3458,3559,4772,4773,8061	FASLG,CSF2,FOS,IFNG,IL2RA,NFATC1,NFATC2,PO SL1
248	16_Membro Vias Canonical M272 PID VIA A JUSANTE TCR CD8	-2,532607231 -1,158 13/65	356,919,925,2353,3442,3458,3559,4772,4 773,5551,5579,8061,8320	FASLG,CD247,CD8A,FOS,IFNA5,IFNG,IL2RA,NFAT C1,NFATC2,PRF1,PRKCB,FOSL1,EOMES
249	16_Membro Via KEGG hsa04650 Citotoxicidade mediada por células assassinas naturais	-2,334180243 -1,015 23/134	356,836,919,1437,2185,2534,3384,3442,3 458,3824,3937,4068,4772,4773,5290,5295 ,5551,5579,6850,8743,10451	FASLG,CASP3,CD247,CSF2,PTK2B,FYN,ICAM2,IFN A5,IFNG,KLRD1,LCP2,SH2D1A,NFATC1,NFATC2,PI K3CA,PIK3R1,PRF1,PRKCB,SYK,TNFSF10,VAV3
250	17_Resumo GO Processos Biológicos	-6,602353266 -4,399	184,301,308,317,322,323,356,596,597,604 ,665,817,834,836,841,943,1499,1540,1647	ADRB2,ANXA1,ANXA5,APAF1,APBB1,APBB2,FAS LG,BCL2,BCL2A1,BCL6,BNIP3L,CAMK2D,CASP1,C

	GO:0043065 regulação positiva do processo apoptótico	85/578	,1687,1848,3458,3592,3624,3635,3663,36 72,3688,3778,3965,4208,4488,5063,5321, 5326,5584,5591,5728,5740,6423,6609,673 3,7074,7159,7421,7490,7498,7531,7534,7 704,8061,8439,8440,8626,8648,8743,8767 ,8997,9353,10018,10395,10451,10550,109 71,11214,26230,29124,29949,50650,5174 1,53832,55164,55655,56891,79156,79370, 81618,85477,90441,112399,114548,12151 2,153090,255738,400410,534541,921,940,9 60,1437,2074,2244,2272,2534,2668,3093, 3479,3708,4003,5054,5295,5716,5770,632 6,6648,6672,7466,8428,8452,9531,10449, 10771,26287,28996,51202,54431,58023,5 5075,57680,64782,79688,90993,246330	ASP3,CASP8,TNFRSF8,CTNNB1,CYLD,GADD45A,D FNA5,DUSP6,IFNG,IL12A,INHBA,INPP5D,IRF5,ITG A1,ITGB1,KCNMA1,LGALS9,MEF2C,MSX2,PAK3,P LA2G4A,PLAGL2,PRKCI,PRKDC,PTEN,PTGIS,SFRP 2,SMPD1,SRPK2,TIAM1,TP53IP2,VDR,WT1,XDH,Y WHAE,YWHAZ,ZBTB16,FOSL1,NSMAF,NCK2,TP63, NCOA1,TNFSF10,RIPK2,KALRN,SLIT2,BCL2L11,DL C1,VAV3,ARL6IP5,YWHAQ,AKAP13,TIAM2,LGALS 13,IL19,ARHGEF3,WWOX,IL20RA,SHQ1,NLRP2,LG ALS14,PLEKHF1,BCL2L14,ITM2C,SCIN,ZNF622,EG LN3,NLRP3,FGD4,DAB2IP,PCSK9,ST20,DDIT4,CD5, CD28,CD44,CSF2,ERCC6,FGB,FHIT,FYN,GDNF,UBE 2K,IGF1,ITPR1,LMNA,SERPINE1,PIK3R1,PSMD10,P TPN1,SCN2A,SOD2,SP100,WFS1,STK24,CUL3,BAG3 ,ACAA2,ZMYND11,ANKRD2,HIPK2,DDX47,DNAJC 10,PHIP,UACA,FNIP2,AEN,ZMAT4,CREB3L1,PELI3
251	17_Membro GO Processos Biológicos GO:0043063 regulação positiva do processo apoptótico	-6,602352266 -4,399 85/578)	154,301,308,317,322,323,356,596,597,604 ,665,817,834,836,841,943,1499,1540,1647 ,1687,1848,3458,3592,3624,3635,3663,36 72,3688,3778,3965,4208,4488,5063,5321, 5326,5584,5591,5728,5740,6423,6609,673 3,7074,7159,7421,7490,7498,7531,7534,7 704,8061,8439,8440,8626,8648,8743,8767 ,8997,9353,10018,10395,10451,10550,109 71,11214,26230,29124,29949,50650,5174 1,53832,55164,55655,56891,79156,79370, 81618,85477,90441,112399,114548,12151 2,153090,255738,400410	ADORB2,ANXA1,ANXA5,APAF1,APBB1,APBB2,FAS LG,BCL2,BCL2A1,BCL6,BNIP3L,CAMK2D,CASP1,C ASP3,CASP8,TNFRSF8,CTNNB1,CYLD,GADD45A,D FNA5,DUSP6,IFNG,IL12A,INHBA,INPP5D,IRF5,ITG A1,ITGB1,KCNMA1,LGALS9,MEF2C,MSX2,PAK3,P LA2G4A,PLAGL2,PRKCI,PRKDC,PTEN,PTGIS,SFRP 2,SMPD1,SRPK2,TIAM1,TP53IP2,VDR,WT1,XDH,Y WHAE,YWHAZ,ZBTB16,FOSL1,NSMAF,NCK2,TP63, NCOA1,TNFSF10,RIPK2,KALRN,SLIT2,BCL2L11,DL C1,VAV3,ARL6IP5,YWHAQ,AKAP13,TIAM2,LGALS 13,IL19,ARHGEF3,WWOX,IL20RA,SHQ1,NLRP2,LG ALS14,PLEKHF1,BCL2L14,ITM2C,SCIN,ZNF622,EG LN3,NLRP3,FGD4,DAB2IP,PCSK9,ST20
252	17_Membro GO Processos Biológicos GO:0043068 regulação positiva de morte celular programada	-6,438249527 -4,269 85/575	154,301,308,317,322,323,356,596,597,604 ,665,817,834,836,841,943,1499,1540,1647 ,1687,1848,3458,3592,3624,3635,3663,36 72,3688,3778,3965,4208,4488,5063,5321, 5326,5584,5591,5728,5740,6423,6609,673 3,7074,7159,7421,7490,7498,7531,7534,7 704,8061,8439,8440,8626,8648,8743,8767 ,8997,9353,10018,10395,10451,10550,109 71,11214,26230,29124,29949,50650,5174 1,53832,55164,55655,56891,79156,79370, 81618,85477,90441,112399,114548,12151	ADORB2,ANXA1,ANXA5,APAF1,APBB1,APBB2,FAS LG,BCL2,BCL2A1,BCL6,BNIP3L,CAMK2D,CASP1,C ASP3,CASP8,TNFRSF8,CTNNB1,CYLD,GADD45A,D FNA5,DUSP6,IFNG,IL12A,INHBA,INPP5D,IRF5,ITG A1,ITGB1,KCNMA1,LGALS9,MEF2C,MSX2,PAK3,P LA2G4A,PLAGL2,PRKCI,PRKDC,PTEN,PTGIS,SFRP 2,SMPD1,SRPK2,TIAM1,TP53IP2,VDR,WT1,XDH,Y WHAE,YWHAZ,ZBTB16,FOSL1,NSMAF,NCK2,TP63, NCOA1,TNFSF10,RIPK2,KALRN,SLIT2,BCL2L11,DL C1,VAV3,ARL6IP5,YWHAQ,AKAP13,TIAM2,LGALS 13,IL19,ARHGEF3,WWOX,IL20RA,SHQ1,NLRP2,LG

			2.153090,255738,400410	AL514,PLEKHF1,BCL2L14,ITM2C,SCIN,ZNF622,EG LN3,NLRP3,FGD4,DAB2IP,PCSK9,ST20)
253	17_Membro GO Processos Biológicos GO:0010942 regulação positiva da morte celular	-5,6390380051 -3,638 86/610	154,301,308,317,322,323,356,596,597,604 ,665,817,834,836,841,843,1499,1540,1647 ,1687,1848,3458,3592,3624,3635,3663,36 72,3688,3778,3965,4208,4438,5083,5321, 5326,5584,5591,5728,5740,6423,6609,673 3,7074,7159,7421,7490,7498,7531,7534,7 704,8061,8439,8440,8626,8648,8743,8767 ,8997,9353,10018,10395,10481,10550,109 71,11214,26230,29124,29949,50650,5174 1,53832,54541,55164,55655,56891,79156, 79370,81618,85477,90441,112399,114548 ,121512,153090,255738,400410	ADRB2,ANXA1,ANXA5,APAF1,APBB1,APBB2,FAS LG,BCL2,BCL2A1,BCL6,BNIP3L,CAMK2D,CASP1,C ASP3,CASP8,TNFRSF8,CTNNB1,CYLD,GADD45A,D FNA5,DUSP6,IFNG,IL12A,INHBA,INPP5D,IRF5,ITG A1,ITGB1,KCNMA1,LGALS9,MEF2C,MSX2,PAK3,P LA2G4A,PLAGL2,PRKCI,PRKDC,PTEN,PTGIS,SFRP 2,SMPD1,SRPK2,TIAM1,TP53BP2,VDR,WT1,XDH,Y WHAE,YWHAZ,ZBTB16,FOSL1,NSMAF,NCK2,TP63, NCOA1,TNFSF10,RIPK2,KALRN,SLIT2,BCL2L11,DL C1,VAV3,ARL6IP5,YWHAQ,AKAP13,TIAM2,LGALS 13,IL19,ARHGEF3,WWOX,IL20RA,DDIT4,SHQ1,NL RP2,LGALS14,PLEKHF1,BCL2L14,ITM2C,SCIN,ZNF 622,EGLN3,NLRP3,FGD4,DAB2IP,PCSK9,ST20)
254	17_Membro GO Processos Biológicos GO:0097190 via de sinalização apoptótica	-4,6382866662 -2,808 83/619	317,336,396,597,665,836,841,921,940,943 ,960,1437,1499,1540,1687,2074,2244,227 2,2534,2668,3093,3458,3479,3592,3624,3 708,3963,4000,5054,5295,5326,5591,5716 ,5728,5740,5770,6326,6423,6648,6672,70 74,7159,7466,7531,7534,8428,8440,8452, 8626,8743,8997,9531,10018,10449,10451, 10550,10771,10971,11214,26230,26287,2 8996,29949,50650,51202,51741,53832,54 431,54541,55023,55075,57680,64782,791 56,79370,79698,81618,90441,90993,1215 12,153090,246930,400410	APAF1,FASLG,BCL2,BCL2A1,BNIP3L,CASP3,CASP 8,CD5,CD28,TNFRSF8,CD44,CSF2,CTNNB1,CYLD,D FNA5,ERCC6,FOS,FHIT,FYN,GDNF,UBE2K,IFNG,IG F1,IL12A,INHBA,ITPR1,LGALS9,LMNA,SERPINE1,P IK3R1,PLAGL2,PRKDC,PSME3,PTEN,PTGIS,PTPN 1,SCN2A,SFRP2,SOD2,SP100,TIAM1,TP53BP2,WFS1, YWHAE,YWHAZ,STK24,NCK2,CUL3,TP63,TNFSF10 ,KALRN,BAG3,BCL2L11,ACAA2,VAV3,ARL6IP5,Z MYND11,YWHAQ,AKAP13,TIAM2,ANKRD2,HIPK2, IL19,ARHGEF3,DDX47,WWOX,IL20RA,DNAJC10,D DIT4,PHIP,UACA,FNIP2,AEN,PLEKHF1,BCL2L14,Z MAT4,ITM2C,ZNF622,CREB3L1,FGD4,DAB2IP,PEL1 3,ST20)
255	17_Membro GO Processos Biológicos GO:0097193 via de sinalização apoptótica intrínseca	-4,1365475507 -2,385 45/292	317,596,597,836,841,960,1540,1687,2074, 2272,3093,3708,5295,5326,5591,5770,632 6,6423,6648,7159,7466,7531,7534,8428,8 440,8452,8626,10018,10550,10971,26287, 28996,29949,51741,53832,54431,54541,5 7600,64782,79156,79698,90441,90993,15 3090,400410	APAF1,BCL2,BCL2A1,CASP3,CASP8,CD44,CYLD,D FNA5,ERCC6,FHIT,UBE2K,ITPR1,PIK3R1,PLAGL2,P RKDC,PTPN1,SCN2A,SFRP2,SOD2,TP53BP2,WFS1,Y WHAE,YWHAZ,STK24,NCK2,CUL3,TP63,BCL2L11, ARL6IP5,YWHAQ,ANKRD2,HIPK2,IL19,WWOX,IL2 0RA,DNAJC10,DDIT4,FNIP2,AEN,PLEKHF1,ZMAT4, ZNF622,CREB3L1,DAB2IP,ST20
256	18_Resumo Conjuntos de Genes Hallmark M5891 HALLMARK HPDKIA	-6,5376199658 -4,355 40/200	272,302,596,665,771,901,1316,1917,1956, 2113,2353,2908,3316,4214,4601,4783,505 4,5214,5236,6095,6383,6535,7511,7852,8 277,8497,8553,8849,8860,8870,9435,9469 ,23036,23327,25976,26136,51316,342906,3	AMPD3,ANXA2,BCL2,BNIP3L,CAT2,CCNG2,KLF6,E DN2,EGFR,ETS1,FOS,NR3C1,RBP1,MAP3K1,MXI1,N FIL3,SERPINE1,PFKP,PGM1,RORA,SDC2,SLC6A6,X PNPEP1,CXCR4,TKTL1,PPP1A4,BHLHE40,KLF7,IRS 2,IER3,CHST2,CHST3,ZNF292,NEDD4L,TIPARP,TES

257	18_ Membro Conjuntos de Genes Hallmark M5891 HALLMARK HIPOXIA	-6,537619658 -4,355 40/200	4541,112464 272,302,596,665,771,901,1316,1907,1956, 2113,2353,2908,3516,4214,4601,4783,505 4,5214,5236,6095,6383,6533,7511,7852,8 277,8497,8553,8609,8660,8870,9435,9469 ,23036,23327,25976,26136,51316,54286,5 4541,112464	PLAC8,ERRFI1,DDIT4,PRKCDBP AMPD3,ANXA2,BCL2,BNIP3L,CA12,CCNG2,KLF6,E DN2,EGFR,ETS1,FOS,NR3C1,RBP1,MAP3K1,MXI1,N FIL3,SERPINE1,PTKP,PGM1,RORA,SDC2,SLC6A6,X PNPEP1,CXCR4,TKTL1,PPT1A4,BHLHE40,KLF7,IRS 2,IER3,CHST2,CHST3,ZNF292,NEDD4L,TIPARP,TES PLAC8,ERRFI1,DDIT4,PRKCDBP
258	19_ Resumo Conjuntos de Genes Hallmark M5953 HALLMARK SINALIZAÇÃO POSITIVA DE KRAS	-6,537619658 -4,355 40/200	330,347,639,894,1149,1240,1437,1794,18 39,1848,2113,3481,3575,3624,3673,3783, 3800,4214,4674,6304,6480,7035,7476,780 5,7852,8404,9053,9358,9734,9910,10221, 10320,11184,22903,23136,27075,28951,5 4462,56729,83734	BIRC3,APOD,PRDM1,CCND2,CIDEA,CMKLR1,CSF2 ,DOCK2,HBEGF,DUSP6,ETS1,IGF2,IL7R,INHBA,ITG A2,KCNN4,KIF5C,MAP3K1,NAP1L2,SATB1,ST6GAL 1,TFPI,WNT7A,LAPTM5,CXCR4,SPARCL1,MAP7,IT GBL1,HDAC9,RABGAP1L,TRIB1,IKZF1,MAP4K1,BT BD3,EPB41L3,FSPAN13,TRIB2,CCSER2,RETN,ATG1 0
259	19_ Membro Conjuntos de Genes Hallmark M5953 HALLMARK SINALIZAÇÃO POSITIVA DE KRAS	-6,537619658 -4,355 40/200	330,347,639,894,1149,1240,1437,1794,18 39,1848,2113,3481,3575,3624,3673,3783, 3800,4214,4674,6304,6480,7035,7476,780 5,7852,8404,9053,9358,9734,9910,10221, 10320,11184,22903,23136,27075,28951,5 4462,56729,83734	BIRC3,APOD,PRDM1,CCND2,CIDEA,CMKLR1,CSF2 ,DOCK2,HBEGF,DUSP6,ETS1,IGF2,IL7R,INHBA,ITG A2,KCNN4,KIF5C,MAP3K1,NAP1L2,SATB1,ST6GAL 1,TFPI,WNT7A,LAPTM5,CXCR4,SPARCL1,MAP7,IT GBL1,HDAC9,RABGAP1L,TRIB1,IKZF1,MAP4K1,BT BD3,EPB41L3,FSPAN13,TRIB2,CCSER2,RETN,ATG1 0
260	20_ Resumo GO Processos Biológicos GO:0031098 cascata de sinalização de proteína cinases ativadas pelo estresse	-6,526604254 -4,348 31/285	1236,1647,1846,1848,1906,2074,2185,225 7,2333,2549,3965,4208,4214,4790,4923,5 063,5734,5770,6197,6423,6504,6850,6885 ,7074,7476,7498,8428,8600,8767,9064,94 48,10125,10221,10333,10550,10771,1118 4,11221,23118,23239,23291,26191,27347, 28996,51765,54106,54986,56940,836605,9 0441,153090,238,493,894,1436,1847,1956 ,2146,2181,2246,3481,3672,4057,4082,41 42,5716,7852,10920,66073,128239,14685 0,219771	CCR7,GADD45A,DUSP4,DUSP6,EDN1,ERCC6,PTK2 B,FGF12,FOS,GAB1,LGALS9,MEF2C,MAP3K1,NFKB 1,ROR2,PAK3,PTGER4,PTPN1,RPS6KA3,SPRP2,SLA MF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,XDH,STK24,TNF SF11,RIPK2,MAP3K6,MAP4K4,RASGRP1,TRIB1,TL R6,ARL6IP5,ZMYND11,MAP4K1,DUSP10,TAB2,PHL PP1,FBXW11,PTPN22,STK39,HIPK2,STK26,TLR9,UL K4,DUSP22,CCM2,ZNF622,DAB2IP,ALK,ATP2B4,CC ND2,CSF1R,DUSP5,EGFR,EZH2,ACSL1,FGF1,IGF2,I TGA1,LTF,MARCKS,MAS1,PSMD10,CXCR4,COPS8, PROK2,IQGAP3,PIK3R6,CCNY
261	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0031098 cascata de sinalização de proteína cinases ativadas pelo estresse	-6,526604254 -4,348 31/285	1236,1647,1846,1848,1906,2074,2185,225 7,2333,2549,3965,4208,4214,4790,4923,5 063,5734,5770,6197,6423,6504,6850,6885 ,7074,7476,7498,8428,8600,8767,9064,94 48,10125,10221,10333,10550,10771,1118 4,11221,23118,23239,23291,26191,27347, 28996,51765,54106,54986,56940,836605,9 0441,153090	CCR7,GADD45A,DUSP4,DUSP6,EDN1,ERCC6,PTK2 B,FGF12,FOS,GAB1,LGALS9,MEF2C,MAP3K1,NFKB 1,ROR2,PAK3,PTGER4,PTPN1,RPS6KA3,SPRP2,SLA MF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,XDH,STK24,TNF SF11,RIPK2,MAP3K6,MAP4K4,RASGRP1,TRIB1,TL R6,ARL6IP5,ZMYND11,MAP4K1,DUSP10,TAB2,PHL PP1,FBXW11,PTPN22,STK39,HIPK2,STK26,TLR9,UL K4,DUSP22,CCM2,ZNF622,DAB2IP

262	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0051403 cascata de MAPK ativadas pelo estresse	-5,763370917 -3,739 46/261	1236,1647,1846,1848,1906,2074,2185,225 7,2353,2549,3965,4208,4700,4920,5734,5 780,6197,6423,6504,6850,6885,7074,7476 ,7498,8600,8767,9064,9448,10125,10221, 10333,10550,10771,11184,11221,23118,2 3239,23291,26191,28996,54106,54986,56 940,83605,90441,153090	CCR7,GADD45A,DUSP4,DUSP6,EDN1,ERCC6,PTK2 B,FGF12,JOS,GAB1,LGALS9,MEF2C,NFKB1,ROR2,P TGER4,PTPN1,RPS6KA3,SFRP2,SLAMF1,SYK,MAP3 K7,TIAM1,WNT7A,XDH,TNFSF11,RIPK2,MAP3K6, MAP4K4,RASGRP1,TRIB1,TLR6,ARL6IP5,ZMYND1 1,MAP4K1,DUSP10,TAB2,PHLPP1,FBXW11,PTPN22, HIPK2,TLR9,ULK4,DUSP22,CCM2,ZNF622,DAB2IP
263	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0007254 cascata de JNK	-5,126637286 -3,197 35/187	1236,1647,1906,2074,2185,2257,2549,492 0,5734,5770,6423,6504,6850,6885,7074,7 476,8600,8767,9064,9448,10125,10221,10 333,10771,11184,11221,23118,23239,261 91,28996,54106,54986,56940,90441,1530 90	CCR7,GADD45A,EDN1,ERCC5,PTK2B,FGF12,GAB1, ROR2,PTGER4,PTPN1,SFRP2,SLAMF1,SYK,MAP3K 7,TIAM1,WNT7A,TNFSF11,RIPK2,MAP3K6,MAP4K4 ,RASGRP1,TRIB1,TLR6,ZMYND11,MAP4K1,DUSP10 ,TAB2,PHLPP1,PTPN22,HIPK2,TLR9,ULK4,DUSP22, ZNF622,DAB2IP
264	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0046328 regulação da cascata de JNK	-4,835836823 -2,969 30/154	1236,1647,1906,2074,2185,2549,5770,642 3,6504,6850,6885,7074,7476,8600,8767,9 064,9448,10125,10333,10771,11184,1122 1,23239,26191,28996,54106,54986,56940, 90441,153090	CCR7,GADD45A,EDN1,ERCC5,PTK2B,GAB1,PTPN1, SFRP2,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,TNFS F11,RIPK2,MAP3K6,MAP4K4,RASGRP1,TLR6,ZMY ND11,MAP4K1,DUSP10,PHLPP1,PTPN22,HIPK2,TLR 9,ULK4,DUSP22,ZNF622,DAB2IP
265	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0046330 regulação positiva da cascata de JNK	-4,417457118 -2,620 23/109	1236,1647,1906,2074,2185,2549,5770,650 4,6850,6885,7074,7476,8600,8767,9064,1 0125,10333,11184,28996,54106,56940,90 441,153090	CCR7,GADD45A,EDN1,ERCC5,PTK2B,GAB1,PTPN1, SLAMF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,TNFSF11,RI PK2,MAP3K6,RASGRP1,TLR6,MAP4K1,HIPK2,TLR9 ,DUSP22,ZNF622,DAB2IP
266	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0032872 regulação da cascata de MAPK ativadas pelo estresse	-4,145738817 -2,390 33/191	1236,1647,1906,2074,2185,2549,3965,577 0,6423,6504,6850,6885,7074,7476,7498,8 600,8767,9064,9448,10125,10333,10550,1 0771,11184,11221,23239,26191,28996,54 106,54986,56940,90441,153090	CCR7,GADD45A,EDN1,ERCC5,PTK2B,GAB1,LGALS 9,PTPN1,SFRP2,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT 7A,XDH,TNFSF11,RIPK2,MAP3K6,MAP4K4,RASGR P1,TLR6,ARL6IP5,ZMYND11,MAP4K1,DUSP10,PHL PP1,PTPN22,HIPK2,TLR9,ULK4,DUSP22,ZNF622,DA B2IP
267	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0070302 regulação da cascata de sinalização de proteína cinases ativadas pelo estresse	-4,100214039 -2,356 33/192	1236,1647,1906,2074,2185,2549,3965,577 0,6423,6504,6850,6885,7074,7476,7498,8 600,8767,9064,9448,10125,10333,10550,1 0771,11184,11221,23239,26191,28996,54 106,54986,56940,90441,153090	CCR7,GADD45A,EDN1,ERCC5,PTK2B,GAB1,LGALS 9,PTPN1,SFRP2,SLAMF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT 7A,XDH,TNFSF11,RIPK2,MAP3K6,MAP4K4,RASGR P1,TLR6,ARL6IP5,ZMYND11,MAP4K1,DUSP10,PHL PP1,PTPN22,HIPK2,TLR9,ULK4,DUSP22,ZNF622,DA B2IP
268	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0032874 regulação positiva da cascata de MAPK ativadas	-4,008623854 -2,356 25/129	1236,1647,1906,2074,2185,2549,5770,650 4,6850,6885,7074,7476,7498,8600,8767,9 064,10125,10333,10550,11184,28996,541 06,56940,90441,153090	CCR7,GADD45A,EDN1,ERCC5,PTK2B,GAB1,PTPN1, SLAMF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,XDH,TNFSF 11,RIPK2,MAP3K6,RASGRP1,TLR6,ARL6IP5,MAP4 K1,HIPK2,TLR9,DUSP22,ZNF622,DAB2IP

	pelo estresse			
269	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0070304 regulação positiva da cascata de sinalização de proteína cinases ativadas pelo estresse	-4,041923889 -2,319 28/130	1236,1647,1906,2074,2185,2549,5770,650 4,6850,6885,7074,7476,7498,8600,8767,9 064,10123,10333,10580,11184,38996,541 06,56940,90441,153090	CCR7,GADD45A,EDN1,ERCC5,PTK2B,GAB1,PTPN1, SLAMF1,SYK,MAP3K7,TIAM1,WNT7A,XIAP,TNFSF 11,RIPK2,MAP3K6,RASGRP1,TLR6,ARL6IP5,MAP4 K1,HIPK2,TLR9,DUSP22,ZNF622,DAB2IP
270	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043506 regulação da atividade de JUN cinases	-3,599813354 -1,951 17/78	1906,2074,2185,2549,5770,6423,6850,688 5,7074,8600,9064,10333,11184,11221,261 91,54106,153090	EDN1,ERCC6,PTK2B,GAB1,PTPN1,SFRP2,SYK,MAP 3K7,TIAM1,TNFSF11,MAP3K6,TLR6,MAP4K1,DUSP 10,PTPN22,TLR9,DAB2IP
271	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043507 regulação positiva da atividade de JUN cinases	-3,383551195 -1,784 14/60	1906,2074,2185,2549,5770,6850,6885,707 4,8600,9064,10333,11184,54106,153090	EDN1,ERCC6,PTK2B,GAB1,PTPN1,SYK,MAP3K7,TI AM1,TNFSF11,MAP3K6,TLR6,MAP4K1,TLR9,DAB2I P
272	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0071902 regulação positiva da atividade de proteína serina/treonina cinases	-3,192651173 -1,640 41/285	238,493,894,1436,1647,1847,1848,1906,1 956,2074,2146,2180,2185,2246,2549,3481 ,3672,4057,4082,4142,5063,5716,5770,68 50,6885,7074,7852,8600,8767,9064,10125 ,10333,10920,11184,23118,54106,60675,1 28239,146890,153090,219771	ALK,ATP2B4,CCND2,CSF1R,GADD45A,DUSP5,DUS P6,EDN1,EGFR,ERCC6,EZH2,ACSL1,PTK2B,FGF1,G AB1,IGF2,ITGA1,LTF,MARCKS,MAS1,PAK3,PSMD1 0,PTPN1,SYK,MAP3K7,TIAM,CXCR4,TNFSF11,RIP K2,MAP3K6,RASGRP1,TLR6,COPS8,MAP4K1,TAB2, TLR9,PRKCK2,IQGAP3,PIK3R6,DAB2IP,CCNY
273	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0043406 regulação positiva da atividade de MAP cinases	-2,388538528 -1,052 29/203	238,1847,1848,1906,1956,2074,2146,2185 ,2246,2549,3672,5063,5770,6850,6885,70 74,7852,8600,8767,9064,10125,10333,111 84,23118,54106,60675,128239,146890,15 3090	ALK,DUSP5,DUSP6,EDN1,EGFR,ERCC6,EZH2,PTK2 B,FGF1,GAB1,ITGA1,PAK3,PTPN1,SYK,MAP3K7,TI AM1,CXCR4,TNFSF11,RIPK2,MAP3K6,RASGRP1,TL R6,MAP4K1,TAB2,TLR9,PRKCK2,IQGAP2,PIK3R6,DA B2IP
274	20_ Membro GO Processos Biológicos GO:0007257 ativação da atividade de JUN cinases	-2,348244098 -1,020 8/32	2074,2549,5770,6850,8600,9064,11184,15 3090	ERCC6,GAB1,PTPN1,SYK,TNFSF11,MAP3K6,MAP4 K1,DAB2IP

*: A Coluna A proporciona, em cada célula, de cima para baixo: Grupo ID, Categoria, Termo, e Descrição. A Coluna B proporciona, em cada célula, de cima para baixo: LogP, Log(valor Q), e InTerm_InList.

REIVINDICAÇÕES

1. Célula (por exemplo, uma população de células), por exemplo, uma célula efetora imune, expressando um receptor de antígenos quiméricos (CAR), caracterizada pelo fato de que

o CAR compreende um domínio de ligação a antígenos, um domínio de transmembrana e um domínio de sinalização intracelular, e

em que a célula tem expressão e/ou função alteradas de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2).

2. Célula, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um gene associado a Tet2.

3. Célula, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um gene associado a Tet2.

4. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um primeiro gene associado a Tet2 e expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um segundo gene associado a Tet2.

5. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que a célula tem adicionalmente expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de Tet2.

6. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizada pelo fato de que o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou todos os) genes escolhidos de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

7. Célula, de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou

eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5 ou todos os) genes escolhidos de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

8. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 8.

9. Célula, de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 8, Coluna B.

10. Célula, de acordo com a reivindicação 8 ou 9, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 8, Coluna A.

11. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna D.

12. Célula, de acordo com a reivindicação 11, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna D.

13. Célula, de acordo com a reivindicação 11 ou 12, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna D.

14. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que o gene associado a Tet2 compreende um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes em uma via (por exemplo, uma ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5,

6, 7, 8, 9, 10 ou mais) vias) escolhida da Tabela 9, Coluna A.

15. Célula, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função reduzidas ou eliminadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna A.

16. Célula, de acordo com a reivindicação 14 ou 15, caracterizada pelo fato de que a célula tem expressão e/ou função aumentadas ou ativadas de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais) genes escolhidos da Tabela 9, Coluna A.

17. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 14 a 16, caracterizada pelo fato de que a via é escolhida de uma ou mais (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou todas) de:

(1) uma via de diferenciação de leucócitos;

(2) uma via de regulação positiva do processo do sistema imune;

(3) uma via de sinalização de proteína tirosina quinase receptora de transmembrana

(4) uma via de regulação da morfogênese da estrutura anatômica;

(5) uma via de sinalização de TNFA através de NFKB;

(6) uma via de regulação positiva da atividade de hidrolase;

(7) uma via de cicatrização de feridas;

(8) uma via de ativação de célula T alfa-beta;

(9) uma via de regulação do movimento de componente celular;

(10) uma via da resposta inflamatória;

(11) uma via de diferenciação de célula mieloide;

(12) uma via de produção de citocinas;

(13) uma via de subregulação em resposta a UV;

(14) uma via de regulação negativa do processo de organismos multicelulares;

(15) uma via da morfogênese de vaso sanguíneo;

(16) uma via de transcrição dependente de NFAT;

(17) uma via de regulação positiva do processo apoptótico;

(18) uma via de hipoxia;

(19) uma via de sobrerregulação por sinalização de KRAS, ou

(20) uma via da cascata de sinalização de proteína quinase ativada pelo estresse.

18. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de diferenciação de leucócitos são escolhidos da Tabela 9, Linha 1.

19. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de regulação positiva do processo do sistema imune são escolhidos da Tabela 9, Linha 56.

20. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de sinalização de proteína tirosina quinase receptora de transmembrana são escolhidos da Tabela 9, Linha 85.

21. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de regulação da morfogênese da estrutura anatômica são escolhidos da Tabela 9, Linha 128.

22. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de sinalização de TNFA através de NFKB são escolhidos da Tabela 9, Linha 134.

23. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de regulação positiva da atividade de hidrolase são escolhidos da Tabela 9, Linha 137.

24. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de cicatrização de feridas são escolhidos da Tabela 9, Linha 141.

25. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de ativação de célula T alfa-beta são escolhidos da Tabela 9, Linha 149.

26. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de regulação do movimento de componente celular são escolhidos da Tabela 9, Linha 180.

27. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via da resposta inflamatória são escolhidos da Tabela 9, Linha 197.

28. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de diferenciação de células mieloides são escolhidos da Tabela 9, Linha 206.

29. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de produção de citocinas são escolhidos da Tabela 9, Linha 221.

30. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de subregulação em resposta a UV são escolhidos da Tabela 9, Linha 233.

31. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de regulação

negativa do processo de organismos multicelulares são escolhidos da Tabela 9, Linha 235.

32. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via da morfogênese de vaso sanguíneo são escolhidos da Tabela 9, Linha 237.

33. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de transcrição dependente de NFAT são escolhidos da Tabela 9, Linha 243.

34. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de regulação positiva do processo apoptótico são escolhidos da Tabela 9, Linha 250.

35. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de hipoxia são escolhidos da Tabela 9, Linha 256.

36. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via de sobrerregulação por sinalização de KRAS são escolhidos da Tabela 9, Linha 258.

37. Célula, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o um ou mais genes associados a uma via da cascata de sinalização de proteína quinase ativada pelo estresse são escolhidos da Tabela 9, Linha 260.

38. Célula, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que o gene associado a Tet2 compreende um gene (por exemplo, um ou mais genes) associado a um fenótipo de memória central.

39. Célula, de acordo com a reivindicação 38, caracterizada pelo fato de que o fenótipo de memória central é um fenótipo de células T de memória central.

40. Célula, de acordo com a reivindicação 38 ou 39, caracterizada pelo fato de que o fenótipo de memória central compreende um nível de expressão mais elevado de CCR7 e/ou CD45RO em comparação com o nível de expressão de CCR7 e/ou CD45RO em uma célula virgem (por exemplo, uma célula T virgem).

41. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 40, caracterizada pelo fato de que o fenótipo de memória central compreende um nível de expressão mais baixo de CD45RA em comparação com o nível de expressão de CD45RA em uma célula virgem (por exemplo, uma célula T virgem).

42. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 41, caracterizada pelo fato de que o fenótipo de memória central compreende proliferação da célula dependente de antígeno intensificada.

43. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 42, caracterizada pelo fato de que o fenótipo de memória central compreende um nível de expressão reduzido de IFN-γ e/ou CD107a, por exemplo, quando a célula é ativada com um anticorpo anti-CD3 ou anti-CD28.

44. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 43, caracterizada pelo fato de que a célula compreende um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) do gene associado a Tet2.

45. Célula, de acordo com a reivindicação 41, caracterizada pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor ou ativador) é (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene associado a Tet2 ou um seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico codificando um ou mais componentes do referido sistema de edição genética; ou (3) uma sua combinação.

46. Célula, de acordo com a reivindicação 45, caracterizada

pelo fato de que o sistema de edição genética é selecionado do grupo consistindo em: um sistema CRISPR/Cas9, um sistema de nucleases dedo de zinco, um sistema TALEN e um sistema de meganucleases.

47. Célula, de acordo com a reivindicação 45 ou 46, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron inicial do gene associado a Tet2.

48. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 47, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo do gene associado a Tet2, e a sequência-alvo está a montante do éxon 4, por exemplo, no éxon 1, éxon 2 ou éxon 3.

49. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 48, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron tardio do gene associado a Tet2.

50. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 49, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo do gene associado a Tet2, e a sequência-alvo está a jusante de um pré-antepenúltimo éxon, por exemplo, está em um antepenúltimo éxon, um penúltimo éxon ou um último éxon.

51. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 45 a 50, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética é um sistema CRISPR/Cas compreendendo uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento que hibrida para uma sequência-alvo do gene associado a Tet2.

52. Célula, de acordo com a reivindicação 44, caracterizada pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor) é um siRNA ou shRNA específico para o gene associado a Tet2, ou ácido nucleico codificando o referido siRNA ou shRNA.

53. Célula, de acordo com a reivindicação 52, caracterizada pelo fato de que o siRNA ou shRNA compreende uma sequência complementar a uma sequência de um mRNA do gene associado a Tet2.

54. Célula, de acordo com a reivindicação 44, caracterizada pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor ou ativador) é uma molécula pequena.

55. Célula, de acordo com a reivindicação 44, caracterizada pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor ou ativador) é uma proteína.

56. Célula, de acordo com a reivindicação 55, caracterizada pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor) é um parceiro de ligação negativo dominante de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2, ou um ácido nucleico codificando o referido parceiro de ligação negativo dominante.

57. Célula, de acordo com a reivindicação 55, caracterizada pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor) é uma variante negativa dominante (por exemplo, cataliticamente inativa) de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2, ou um ácido nucleico codificando a referida variante negativa dominante.

58. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 57, caracterizada pelo fato de que a célula compreende um inibidor de um primeiro gene associado a Tet2 e um ativador de um segundo gene associado a Tet2.

59. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 58, caracterizada pelo fato de que compreende ainda um inibidor de Tet2.

60. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 59, caracterizada pelo fato de que o domínio de ligação a antígeno se liga a um antígeno tumoral que é selecionado de um grupo

consistindo em: TSHR, CD19, CD123, CD22, CD30, CD171, CS-1, CLL-1, CD33, EGFRvIII , GD2, GD3, BCMA, Tn Ag, PSMA, ROR1, FLT3, FAP, TAG72, CD38, CD44v6, CEA, EPCAM, B7H3, KIT, IL-13Ra2, Mesotelina, IL-11Ra, PSCA, PRSS21, VEGFR2, LewisY, CD24, PDGFR-beta, SSEA-4, CD20, Receptor de folato alfa, ERBB2 (Her2/neu), MUC1, EGFR, NCAM, Prostase, PAP, ELF2M, Efrina B2, receptor de IGF-I, CAIX, LMP2, gp100, bcr-abl, tirosinase, EphA2, Fucosil GM1, sLe, GM3, TGS5, HMWMAA, o-acetil-GD2, Receptor de folato beta, TEM1/CD248, TEM7R, CLDN6, GPRC5D, CXORF61, CD97, CD179a, ALK, Ácido polissiálico, PLAC1, GloboH, NY-BR-1, UPK2, HAVCR1, ADRB3, PANX3, GPR20, LY6K, OR51E2, TARP, WT1, NY-ESO-1, LAGE-1a, MAGE-A1, legumaína, HPV E6,E7, MAGE A1, ETV6-AML, proteína do esperma 17, XAGE1, Tie 2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, antígeno relacionado com Fos 1, p53, p53 mutante, prosteína, survivina e telomerase, PCTA-1/Galectina 8, MelanA/MART1, Ras mutante, hTERT, pontos de quebra de translocação de sarcoma, ML-IAP, ERG (gene de fusão TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, Receptor de andrógenos, Ciclina B1, MYCN, RhoC, TRP-2, CYP1B1, BORIS, SART3, PAX5, OY-TES1, LCK, AKAP-4, SSX2, RAGE-1, transcriptase reversa de telomerase humana, RU1, RU2, carboxil-esterase intestinal, hsp70-2 mut, CD79a, CD79b, CD72, LAIR1, FCAR, LILRA2, CD300LF, CLEC12A, BST2, EMR2, LY75, GPC3, FCRL5 e IGLL1.

61. Célula, de acordo com a reivindicação 60, caracterizada pelo fato de que o antígeno tumoral é CD19.

62. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 61, caracterizada pelo fato de que o domínio de ligação a antígeno é um anticorpo ou fragmento de anticorpo como descrito, por exemplo, em WO2012/079000 ou WO2014/153270.

63. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 62, caracterizada pelo fato de que o domínio de transmembrana compreende:

uma sequência de aminoácidos tendo pelo menos uma, duas ou três modificações, mas não mais do que 20, 10 ou 5 modificações de uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 12, ou uma sequência com 95-99% de identidade com uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 12, ou a sequência de SEQ ID Nº: 12.

64. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63, caracterizada pelo fato de que o domínio de ligação a antígeno é conectado ao domínio de transmembrana por uma região de dobradiça, em que a referida região de dobradiça compreende a SEQ ID Nº: 2 ou SEQ ID Nº: 6, ou uma sequência com 95-99% de identidade das mesmas.

65. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 64, caracterizada pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização primário e/ou um domínio de sinalização coestimulador, em que o domínio de sinalização primário compreende um domínio de sinalização funcional de uma proteína escolhida de CD3 zeta, CD3 gama, CD3 delta, CD3 épsilon, FcR gama comum (FCER1G), FcR beta (Fc Épsilon R1b), CD79a, CD79b, Fcgama RIIa, DAP10 ou DAP12.

66. Célula, de acordo com a reivindicação 65, caracterizada pelo fato de que o domínio de sinalização primário compreende: uma sequência de aminoácidos tendo pelo menos uma, duas ou três modificações, mas não mais do que 20, 10 ou 5 modificações de uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20, ou uma sequência com 95-99% de identidade com uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20; ou a sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20.

67. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 66, caracterizada pelo fato de que o domínio de sinalização intracelular compreende um domínio de sinalização coestimulador, ou um domínio de sinalização primário e um domínio de sinalização coestimulador, em que o domínio de sinalização coestimulador compreende um domínio de sinalização funcional de uma proteína selecionada do grupo consistindo em CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno associado à função de linfócito-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, um ligante que se liga especificamente a CD83, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), CD160, CD19, CD4, CD8alfa, CD8beta, IL2R beta, IL2R gama, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11l, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tátil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, e NKG2D.

68. Célula, de acordo com a reivindicação 67, caracterizada pelo fato de que o domínio de sinalização coestimulador compreende uma sequência de aminoácidos tendo pelo menos uma, duas ou três modificações, mas não mais do que 20, 10 ou 5 modificações de uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16, ou uma sequência com 95-99% de identidade com uma sequência de aminoácidos de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16.

69. Célula, de acordo com a reivindicação 67 ou 68, caracterizada pelo fato de que o domínio de sinalização coestimulador compreende uma sequência de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16.

70. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 69, caracterizada pelo fato de que o domínio intracelular compreende a sequência de SEQ ID Nº: 14 ou SEQ ID Nº: 16, e a sequência de SEQ ID Nº: 18 ou SEQ ID Nº: 20, em que as sequências compreendendo o domínio de sinalização intracelular são expressas no mesmo quadro e como uma única cadeia polipeptídica.

71. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 70, caracterizada pelo fato de que compreende ainda uma sequência líder que compreende a sequência de SEQ ID Nº: 2.

72. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 71, caracterizada pelo fato de que a célula é uma célula efetora imune (por exemplo, uma população de células efetoras imunes).

73. Célula, de acordo com a reivindicação 72, caracterizada pelo fato de que a célula efetora imune é uma célula T ou uma célula NK.

74. Célula, de acordo com a reivindicação 72 ou 73, caracterizada pelo fato de que a célula efetora imune é uma célula T.

75. Célula, de acordo com a reivindicação 73 ou 74, caracterizada pelo fato de que a célula T é uma célula T CD4+, uma célula T CD8+ ou uma sua combinação.

76. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 75, caracterizada pelo fato de que a célula é uma célula humana.

77. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 76, caracterizada pelo fato de que a célula compreende um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

78. Célula, de acordo com a reivindicação 77, caracterizada pelo fato de que o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é (1) um sistema de edição genética dirigido para um ou mais sítios dentro de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou

PRDM1 ou um seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico codificando um ou mais componentes do referido sistema de edição genética; ou (3) sua combinação.

79. Célula, de acordo com a reivindicação 78, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética é selecionado do grupo consistindo em: um sistema CRISPR/Cas9, um sistema de nucleases dedo de zinco, um sistema TALEN e um sistema de meganucleases.

80. Célula, de acordo com a reivindicação 78 ou 79, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron inicial de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

81. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 78 a 80, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, e a sequência-alvo está a montante do éxon 4, por exemplo, no éxon1, éxon2 ou éxon3, por exemplo, no éxon 3.

82. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 78 a 81, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo em um éxon ou íntron tardio de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

83. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 78 a 82, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética se liga a uma sequência-alvo de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, e a sequência-alvo está a jusante de um pré-antepenúltimo éxon, por exemplo, está em um antepenúltimo éxon, um penúltimo éxon ou um último éxon.

84. Célula, de acordo com qualquer uma das reivindicações 78 a 83, caracterizada pelo fato de que o sistema de edição genética é um sistema CRISPR/Cas compreendendo uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento que hibrida para

uma sequência-alvo de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

85. Célula, de acordo com a reivindicação 84, caracterizada pelo fato de que o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é um siRNA ou shRNA específico para IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, ou ácido nucleico codificando o referido siRNA ou shRNA.

86. Célula, de acordo com a reivindicação 85, caracterizada pelo fato de que o siRNA ou shRNA compreende uma sequência complementar a uma sequência de um mRNA de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

87. Célula, de acordo com a reivindicação 77, caracterizada pelo fato de que o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é uma molécula pequena.

88. Célula, de acordo com a reivindicação 77, caracterizada pelo fato de que o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é uma proteína, por exemplo, é um parceiro de ligação negativo dominante de uma proteína codificada por um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, ou um ácido nucleico codificando o referido parceiro de ligação negativo dominante.

89. Célula, de acordo com a reivindicação 77, caracterizada pelo fato de que o inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1 é uma proteína, por exemplo, é uma variante negativa dominante (por exemplo, cataliticamente inativa) de uma proteína codificada por um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1, ou um ácido nucleico codificando a referida variante negativa dominante.

90. Método para aumentar a eficácia terapêutica de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 89, por exemplo, uma célula expressando CAR19 (por exemplo, CTL019 ou CTL119),

compreendendo uma etapa de alterar (por exemplo, diminuir ou aumentar) a expressão e/ou função de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) na referida célula, caracterizado pelo fato de que o gene associado a Tet2 é escolhido de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

91. Método, de acordo com a reivindicação 90, caracterizado pelo fato de que compreende alterar (por exemplo, diminuir) a expressão e/ou função de um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

92. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 90 e 91, caracterizado pelo fato de que compreende ainda alterar (por exemplo, diminuir) a expressão e/ou função de Tet2.

93. Método para aumentar a eficácia terapêutica de uma célula expressando CAR, por exemplo, uma célula, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 92, por exemplo, uma célula expressando CAR19 (por exemplo, CTL019 ou CTL119), caracterizado pelo fato de que compreende uma etapa de contatar a referida célula com um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A, ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

94. Método, de acordo com a reivindicação 93, caracterizado pelo fato de que a referida etapa compreende contatar as referidas células com um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

95. Método, de acordo com a reivindicação 93 ou 94, caracterizado pelo fato de que o inibidor é selecionado do grupo consistindo em: (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene associado a Tet2, ou seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico (por exemplo, um siRNA ou shRNA) que inibe a expressão do gene associado a Tet2; (3) uma proteína (por exemplo, uma negativa dominante, por exemplo, cataliticamente inativa) codificada pelo gene associado a Tet2, ou um parceiro de ligação de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2; (4) uma molécula pequena que inibe a expressão e/ou função do gene associado a Tet2; (5) um ácido nucleico codificando quaisquer de (1)-(3); e (6) qualquer combinação de (1)–(5).

96. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 93 a 95, caracterizado pelo fato de que compreende ainda contatar a referida célula com um inibidor de Tet2.

97. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 93 a 96, caracterizado pelo fato de que o referido contato ocorre *ex vivo*.

98. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 93 a 97, caracterizado pelo fato de que o contato ocorre *in vivo*.

99. Método, de acordo com a reivindicação 98, caracterizado

pelo fato de que o contato ocorre *in vivo* antes da administração na célula de ácido nucleico codificando um CAR.

100. Método, de acordo com a reivindicação 98, caracterizado pelo fato de que o contato ocorre *in vivo* depois de as células terem sido administradas a um sujeito necessitado.

101. Método para tratamento de câncer em um sujeito, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao referido sujeito uma quantidade eficaz da célula, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 91.

102. Método, de acordo com a reivindicação 101, caracterizado pelo fato de que compreende ainda administrar ao referido sujeito um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhidos de um ou mais (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

103. Método, de acordo com a reivindicação 101 ou 102, caracterizado pelo fato de que compreende ainda administrar ao referido sujeito um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

104. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 101 a 103, caracterizado pelo fato de que compreende ainda administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2.

105. Célula para uso em um método de tratamento de um sujeito necessitado do mesmo, caracterizada pelo fato de que compreende administrar ao referido sujeito uma quantidade eficaz da célula, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 91.

106. Célula para uso, de acordo com a reivindicação 105, caracterizada pelo fato de que o método compreende ainda administrar ao referido sujeito um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhidos (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

107. Célula para uso, de acordo com a reivindicação 105 ou 106, caracterizada pelo fato de que o método compreende ainda administrar ao referido sujeito um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

108. Célula para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 105 a 107, caracterizada pelo fato de que o método compreende ainda administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2.

109. Terapia com células expressando CAR caracterizada pelo fato de ser para uso em um método de tratamento de um sujeito necessitado do mesmo, o método compreendendo administrar ao referido sujeito a terapia com células expressando CAR e um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2

(por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

110. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com a reivindicação 109, caracterizada pelo fato de que o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

111. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com a reivindicação 109 ou 110, caracterizada pelo fato de que o método compreende ainda administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2.

112. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 109 a 111, caracterizada pelo fato de que o sujeito recebe um pré-tratamento do modulador (por exemplo, inibidor) antes do início da terapia com células expressando CAR.

113. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 109 a 112, caracterizada pelo fato de que o sujeito recebe tratamento concorrente com o modulador (por exemplo, inibidor) e a terapia com células expressando CAR.

114. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 109 a 113, caracterizada

pelo fato de que o sujeito recebe tratamento com o modulador (por exemplo, inibidor) após terapia com células expressando CAR.

115. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 109 a 114, caracterizada pelo fato de que o sujeito tem uma doença associada à expressão de um antígeno tumoral, por exemplo, uma doença proliferativa, uma condição pré-cancerosa, um câncer e uma indicação não relacionada com câncer associada à expressão do antígeno tumoral.

116. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com a reivindicação 115, caracterizada pelo fato de que o câncer é um câncer hematológico ou um tumor sólido.

117. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com a reivindicação 115 ou 116, caracterizada pelo fato de que o câncer é um câncer hematológico escolhido de um ou mais de leucemia linfocítica crônica (CLL), leucemias agudas, leucemia linfoide aguda (ALL), leucemia linfoide aguda de célula B (B-ALL), leucemia linfoide aguda de célula T (T-ALL), leucemia mielógena crônica (CML), leucemia pró-linfocítica de célula B, neoplasma de célula dendrítica plasmocitoide blástica, linfoma de Burkitt, linfoma difuso de célula grande B, linfoma folicular, leucemia de célula pilosa, linfoma folicular de célula pequena ou célula grande, condições linfoproliferativas malignas, linfoma MALT, linfoma de célula do manto, linfoma da zona marginal, mieloma múltiplo, mielodisplasia e síndrome mielodisplásica, linfoma de não Hodgkin, linfoma de Hodgkin, linfoma plasmablástico, neoplasma de céluls dendrítica plasmocitoide, macroglobulinemia de Waldenstrom ou pré-leucemia.

118. Terapia com células expressando CAR para uso, de acordo com a reivindicação 115 ou 116, caracterizada pelo fato de que o câncer é selecionado do grupo consistindo em câncer do cólon, câncer retal, carcinoma de célula renal, câncer do fígado, carcinoma do pulmão

de célula não pequena, câncer do intestino delgado, câncer do esôfago, melanoma, câncer ósseo, câncer pancreático, câncer de pele, câncer da cabeça ou pescoço, melanoma maligno cutâneo ou intraocular, câncer uterino, câncer do ovário, câncer retal, câncer da região anal, câncer do estômago, câncer testicular, câncer uterino, carcinoma das trompas de Falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma do colo do útero, carcinoma da vagina, carcinoma da vulva, doença de Hodgkin, linfoma de não Hodgkin, câncer do sistema endócrino, câncer da glândula tireoide, câncer da glândula paratireoide, câncer da glândula adrenal, sarcoma de tecido mole, câncer da uretra, câncer do pênis, tumores sólidos da infância, câncer da bexiga, câncer do rim ou ureter, carcinoma da pélvis renal, neoplasma do sistema nervoso central (SNC), linfoma primário do SNC, angiogênese tumoral, tumor do eixo espinhal, glioma do tronco cerebral, adenoma da pituitária, sarcoma de Kaposi, câncer epidermoide, câncer de célula escamosa, linfoma de célula T, cânceres induzidos pelo ambiente, combinações dos referidos cânceres e lesões metastáticas dos referidos cânceres.

119. Método de tratamento de um sujeito, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao referido sujeito um modulador (por exemplo, um inibidor ou ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhidos (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central,

em que o referido sujeito recebeu, está recebendo ou está prestes a receber terapia compreendendo uma célula expressando CAR.

120. Método, de acordo com a reivindicação 119, caracterizado pelo fato de que o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

121. Método, de acordo com a reivindicação 119 ou 120, caracterizado pelo fato de que compreende ainda administrar ao referido sujeito um inibidor de Tet2.

122. Modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) para uso no tratamento de um sujeito,

caracterizado pelo fato de que o gene associado a Tet2 é escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central, e

em que o referido sujeito recebeu, está recebendo ou está prestes a receber terapia compreendendo uma célula expressando CAR.

123. Modulador para uso, de acordo com a reivindicação 122, caracterizado pelo fato de que o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

124. Modulador para uso, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, caracterizado pelo fato de que o sujeito recebeu, está recebendo ou está prestes a receber um inibidor de Tet2.

125. Método de fabricação de uma célula expressando CAR, caracterizado pelo fato de que compreende introduzir um ácido nucleico codificando um CAR em uma célula de modo que o referido ácido nucleico (ou sua porção codificando CAR) é integrado no genoma da célula dentro de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) (por exemplo, dentro de um íntron ou éxon do gene associado a Tet2), de modo que a expressão e/ou função dos genes associados a Tet2 são alteradas (por exemplo, reduzidas ou eliminadas),

em que o gene associado a Tet2 é escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

126. Método, de acordo com a reivindicação 125, caracterizado pelo fato de que o gene associado a Tet2 é escolhido de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

127. Método de fabricação de uma célula expressando CAR, caracterizada pelo fato de que compreende contatar a referida célula expressando CAR *ex vivo* com um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

128. Método, de acordo com a reivindicação 127, caracterizado pelo fato de que o gene associado a Tet2 é escolhido de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

129. Vetor caracterizado pelo fato de que compreende uma sequência codificando um CAR e uma sequência codificando um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

130. Vetor, de acordo com a reivindicação 129, caracterizado pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor) é (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene, ou seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico (por exemplo, um siRNA ou shRNA) que inibe a expressão do gene associado a Tet2; (3) uma proteína (por exemplo, uma negativa dominante, por exemplo, cataliticamente inativa) codificada pelo gene associado a Tet2, ou um parceiro de ligação de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2; e (4) um ácido nucleico codificando quaisquer de (1)-(3), ou suas combinações.

131. Vetor, de acordo com a reivindicação 129 ou 130, caracterizado pelo fato de que o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

132. Vetor, de acordo com qualquer uma das reivindicações 129 a 131, caracterizado pelo fato de que a sequência codificando um CAR e a sequência codificando o inibidor estão separadas por um sítio 2A.

133. Sistema de edição genética que é específico para uma sequência de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) ou seu elemento regulador, caracterizado pelo fato de que o gene associado a Tet2 é escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

134. Sistema de edição genética, de acordo com a reivindicação 133, caracterizado pelo fato de que o sistema de edição genética é específico para uma sequência de um gene IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

135. Sistema de edição genética, de acordo com a reivindicação 133 ou 134, caracterizado pelo fato de que o sistema de edição genética é um sistema de edição genética CRISPR/Cas, um sistema de nucleases dedo de zinco, um sistema TALEN ou um sistema de meganucleases.

136. Sistema de edição genética, de acordo com qualquer uma das reivindicações 133 a 135, caracterizado pelo fato de que o

sistema de edição genética é um sistema de edição genética CRISPR/Cas.

137. Sistema de edição genética, de acordo com a reivindicação 136, caracterizado pelo fato de que compreende:

uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou seu elemento regulador, e uma proteína Cas9;

uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou seu elemento regulador, e um ácido nucleico codificando uma proteína Cas9;

um ácido nucleico codificando uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou seu elemento regulador, e uma proteína Cas9, ou

um ácido nucleico codificando uma molécula de gRNA compreendendo uma sequência de direcionamento específica para uma sequência do gene associado a Tet2 ou seu elemento regulador, e um ácido nucleico codificando uma proteína Cas9.

138. Sistema de edição genética, de acordo com qualquer uma das reivindicações 133 a 137, caracterizado pelo fato de que compreende ainda um DNA-modelo.

139. Sistema de edição genética, de acordo com a reivindicação 138, caracterizado pelo fato de que o DNA-modelo compreende uma sequência de ácido nucleico codificando um CAR, por exemplo, um CAR como descrito aqui.

140. Composição para fabricação *ex vivo* de uma célula expressando CAR, caracterizada pelo fato de que compreende um modulador (por exemplo, um inibidor ou um ativador) de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2)

escolhido (por exemplo, 2, 3, 4 ou todos) de:

(i) um ou mais de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1;

(ii) um ou mais genes listados na Tabela 8;

(iii) um ou mais genes listados na Tabela 9, Coluna D;

(iv) um ou mais genes associados a uma ou mais vias listadas na Tabela 9, Coluna A; ou

(v) um ou mais genes associados a um fenótipo de memória central.

141. Composição, de acordo com a reivindicação 140, caracterizada pelo fato de que o modulador é um inibidor de IFNG, NOTCH2, CD28, ICOS, IL2RA ou PRDM1.

142. Composição, de acordo com a reivindicação 140 ou 141, caracterizada pelo fato de que o modulador (por exemplo, inibidor) é (1) um sistema de edição genética direcionado para um ou mais sítios dentro do gene associado a Tet2 ou seu elemento regulador; (2) um ácido nucleico (por exemplo, um siRNA ou shRNA) que inibe a expressão do gene associado a Tet2; (3) uma proteína (por exemplo, uma negativa dominante, por exemplo, cataliticamente inativa) codificada pelo gene ou um parceiro de ligação de uma proteína codificada pelo gene associado a Tet2; ou (4) um ácido nucleico codificando quaisquer de (1)-(3), ou suas combinações.

143. Composição, de acordo com a reivindicação 142, caracterizada pelo fato de que compreende ainda um inibidor de Tet2.

144. População de células compreendendo uma ou mais células, como definidas em qualquer uma das reivindicações 1 a 89, caracterizada pelo fato de que a população de células compreende uma percentagem mais elevada (por exemplo, pelo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 vezes mais elevada) de células Tscm (por exemplo, células T CD45RA+CD62L+CCR7+ (opcionalmente CD27+CD95+)) do que

uma população de células que não compreende uma ou mais células nas quais a expressão e/ou função de um gene associado a Tet2 (por exemplo, um ou mais genes associados a Tet2) na referida célula foram reduzidas ou eliminadas.

145. População de células compreendendo uma ou mais células, como definidas em qualquer uma das reivindicações 1 a 89, caracterizada pelo fato de que pelo menos 50% (por exemplo, pelo menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% ou 99%) da população de células têm um fenótipo de células T de memória central.

146. População de células, de acordo com a reivindicação 145, caracterizada pelo fato de que o fenótipo de células de memória central é um fenótipo de célula T de memória central.

147. População de células, de acordo com a reivindicação 145 ou 146, caracterizada pelo fato de que pelo menos 50% (por exemplo, pelo menos 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% ou 99%) da população de células expressam CD45RO e/ou CCR7.

FIG. 1A

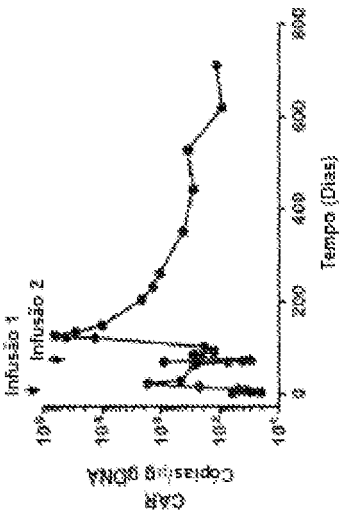


FIG. 1B

FIG. 1C

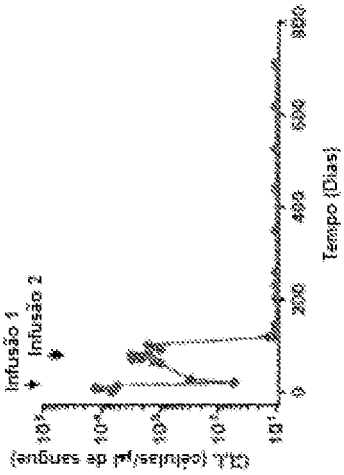


FIG. 1D

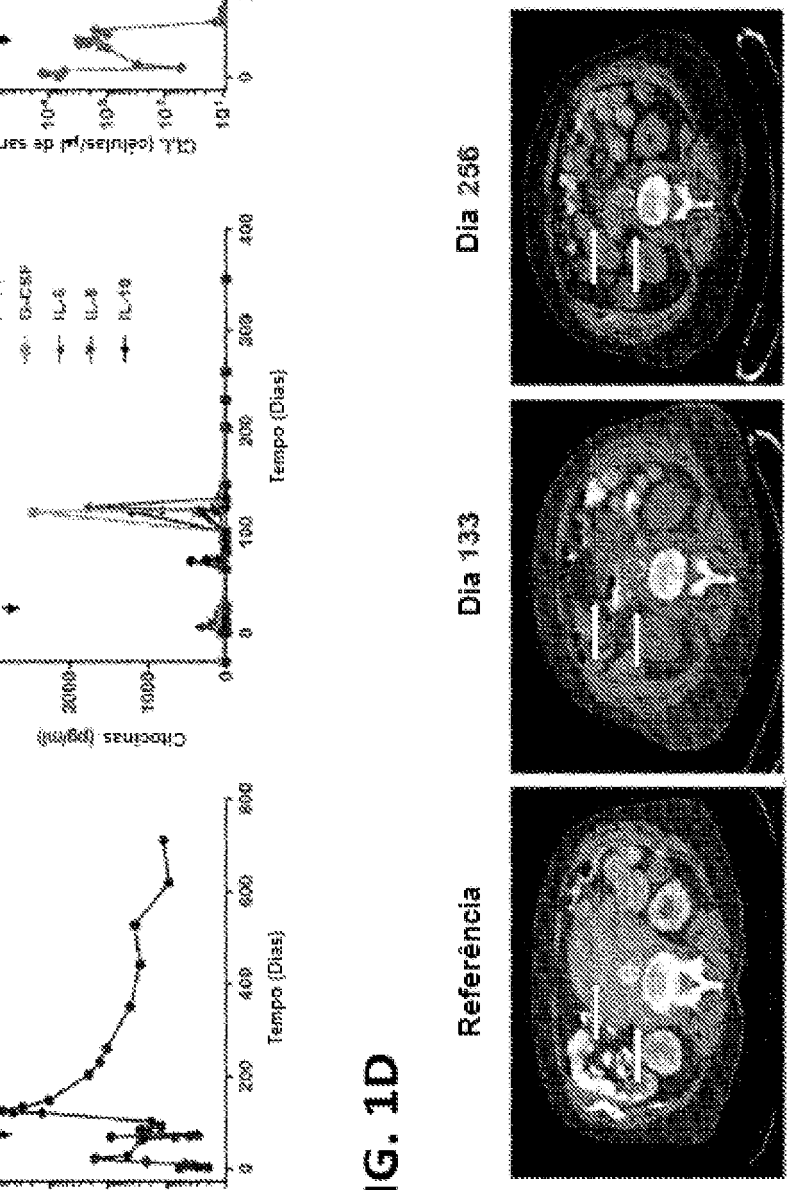


FIG. 2

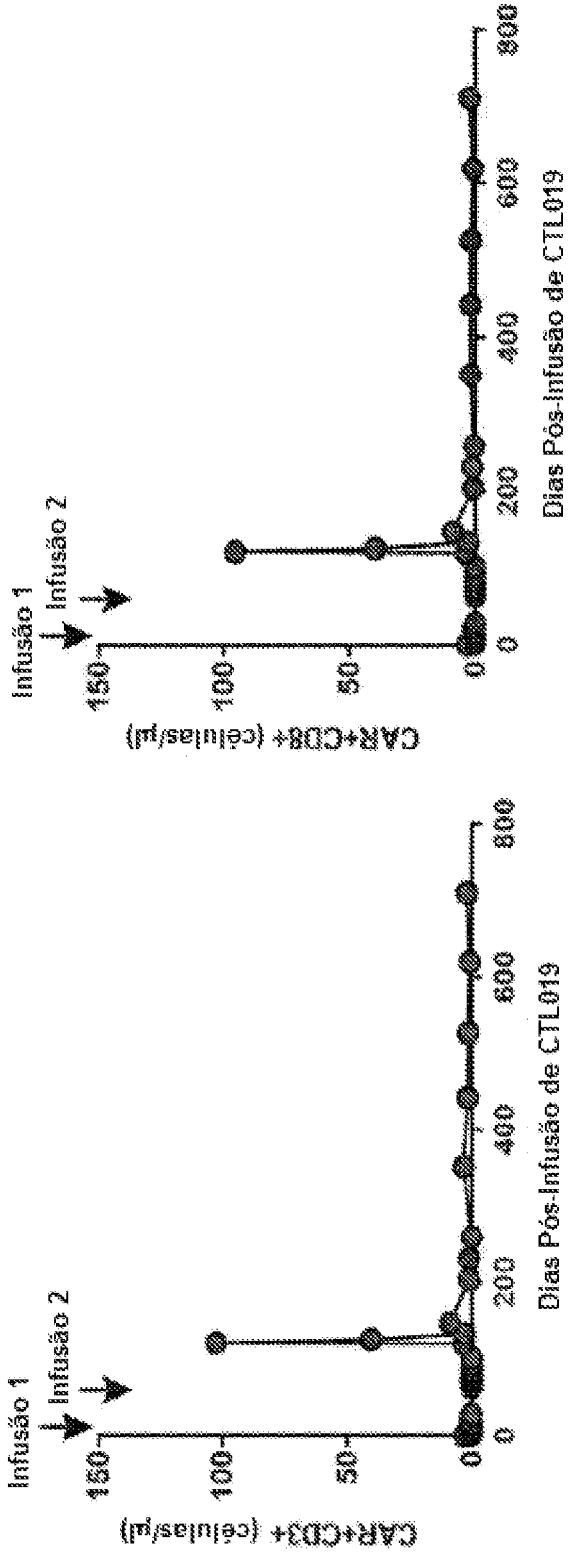
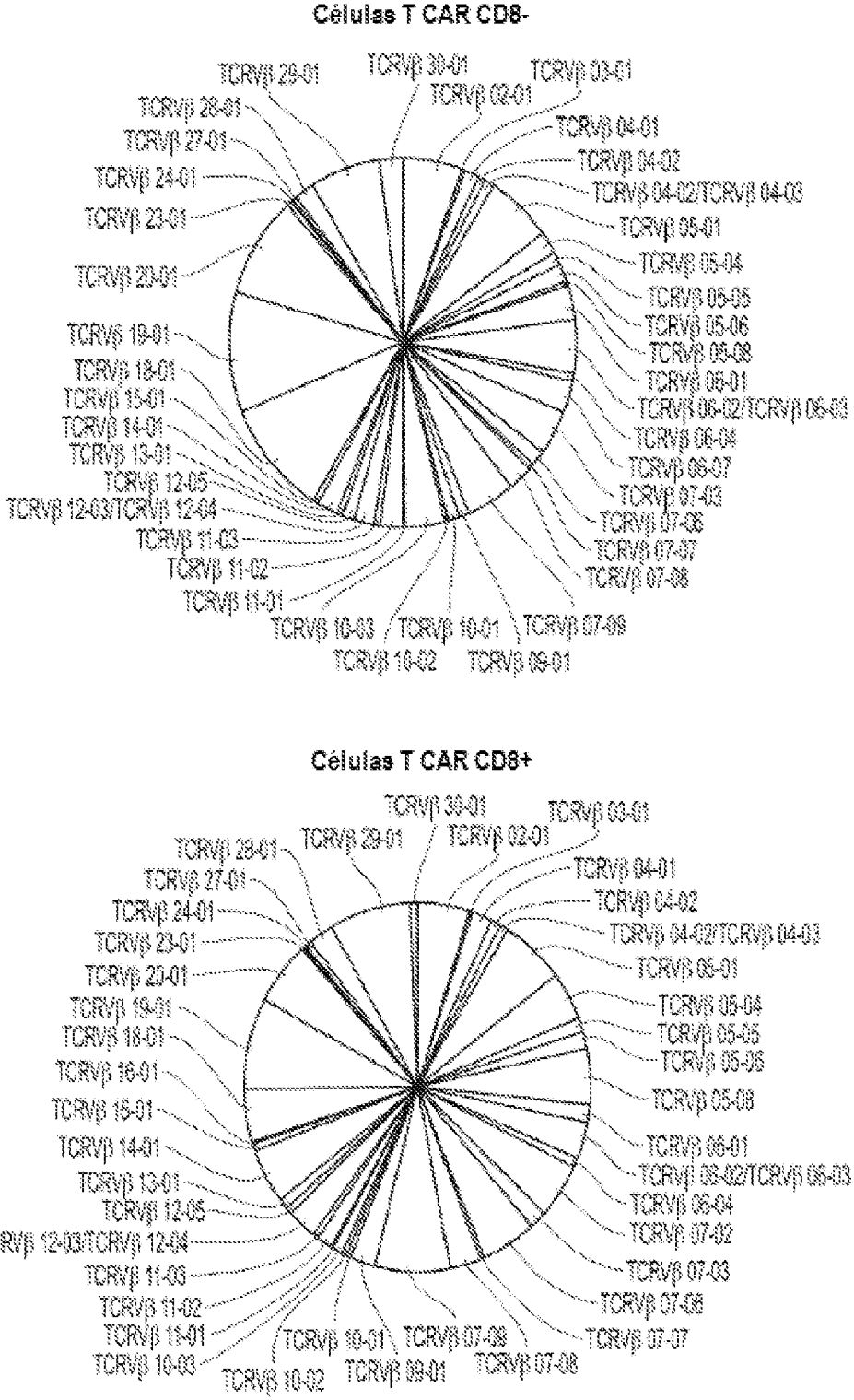

Infusão 1
Infusão 2
CAR+CD3+ (células/µl)
150
100
50
0
0
200
400
600
800
Dias Pós-Infusão de CTL019
Infusão 1
Infusão 2
CAR+CD8+ (células/µl)
150
100
50
0
0
200
400
600
800
Dias Pós-Infusão de CTL019

FIG. 3


Células T CAR CD8-
TCRVβ 30-01
TCRVβ 03-01
TCRVβ 29-01
TCRVβ 02-01
TCRVβ 28-01
TCRVβ 04-01
TCRVβ 27-01
TCRVβ 04-02
TCRVβ 24-01
TCRVβ 04-02/TCRVβ 04-03
TCRVβ 23-01
TCRVβ 05-01
TCRVβ 20-01
TCRVβ 05-04
TCRVβ 05-05
TCRVβ 19-01
TCRVβ 05-06
TCRVβ 18-01
TCRVβ 05-08
TCRVβ 15-01
TCRVβ 06-01
TCRVβ 14-01
TCRVβ 06-02/TCRVβ 06-03
TCRVβ 13-01
TCRVβ 06-04
TCRVβ 12-05
TCRVβ 06-07
TCRVβ 12-03/TCRVβ 12-04
TCRVβ 07-03
TCRVβ 11-03
TCRVβ 07-06
TCRVβ 11-02
TCRVβ 07-07
TCRVβ 11-01
TCRVβ 07-08
TCRVβ 10-03
TCRVβ 10-01
TCRVβ 07-09
TCRVβ 10-02
TCRVβ 09-01
Células T CAR CD8+
TCRVβ 30-01
TCRVβ 03-01
TCRVβ 29-01
TCRVβ 02-01
TCRVβ 28-01
TCRVβ 04-01
TCRVβ 27-01
TCRVβ 04-02
TCRVβ 24-01
TCRVβ 04-02/TCRVβ 04-03
TCRVβ 23-01
TCRVβ 05-01
TCRVβ 20-01
TCRVβ 05-04
TCRVβ 19-01
TCRVβ 05-05
TCRVβ 18-01
TCRVβ 05-06
TCRVβ 16-01
TCRVβ 05-08
TCRVβ 15-01
TCRVβ 06-01
TCRVβ 14-01
TCRVβ 06-02/TCRVβ 06-03
TCRVβ 13-01
TCRVβ 06-04
TCRVβ 12-05
TCRVβ 07-02
TCRVβ 12-03/TCRVβ 12-04
TCRVβ 07-03
TCRVβ 11-03
TCRVβ 07-06
TCRVβ 11-02
TCRVβ 07-07
TCRVβ 11-01
TCRVβ 07-08
TCRVβ 10-03
TCRVβ 10-01
TCRVβ 07-09
TCRVβ 10-02
TCRVβ 09-01

Petição 870190117962, de 14/11/2019, pág. 645/678

FIG. 4A

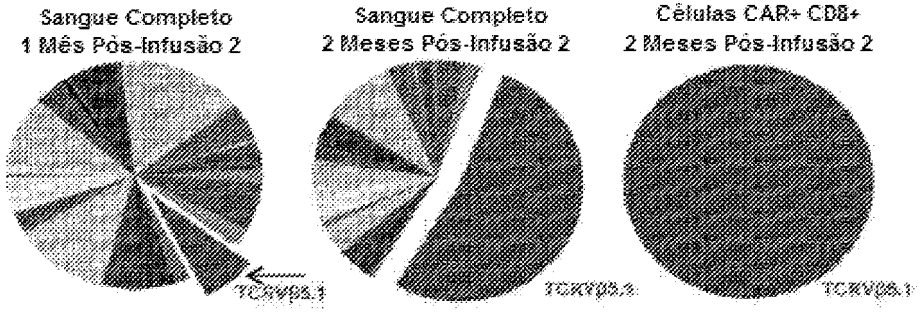


FIG. 4B

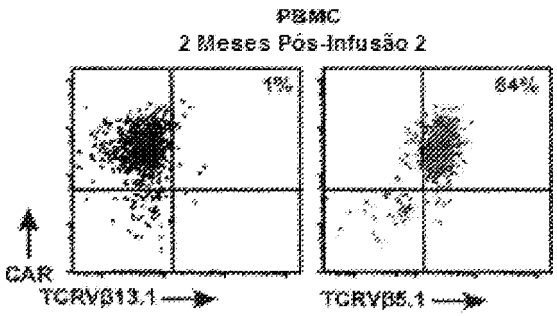


FIG. 4C

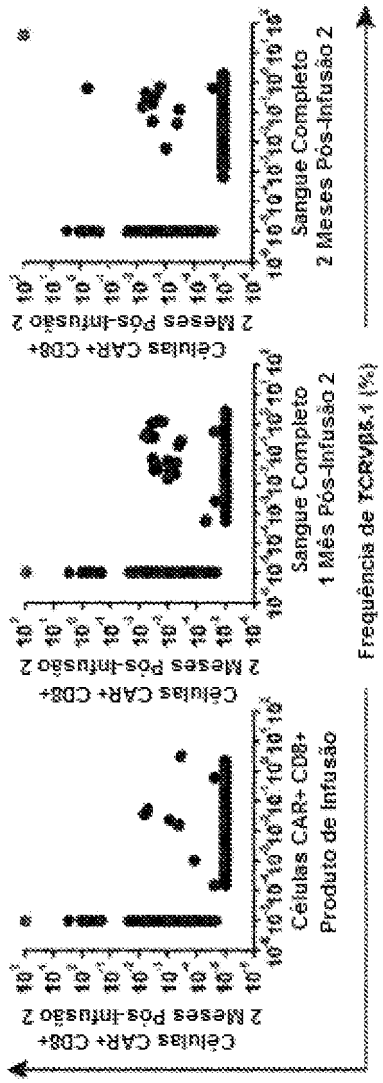

Células CAR+ CD8+
2 Meses Pós-Infusão 2
Células CAR+ CD8+
Produto de Infusão
Células CAR+ CD8+
2 Meses Pós-Infusão 2
Sangue Completo
1 Mês Pós-Infusão 2
Células CAR+ CD8+
2 Meses Pós-Infusão 2
Sangue Completo
2 Meses Pós-Infusão 2
Frequência de TCRVβ8.1 (%)

FIG. 4D

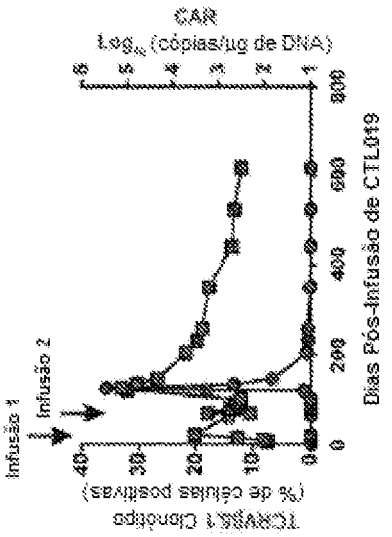

Infusão 1
Infusão 2
TCRVβ8.1 Clonotipo
(% de células positivas)
CAR
Log10 (cópias/ug de DNA)
Dias Pós-Infusão de CTL019

FIG. 5A

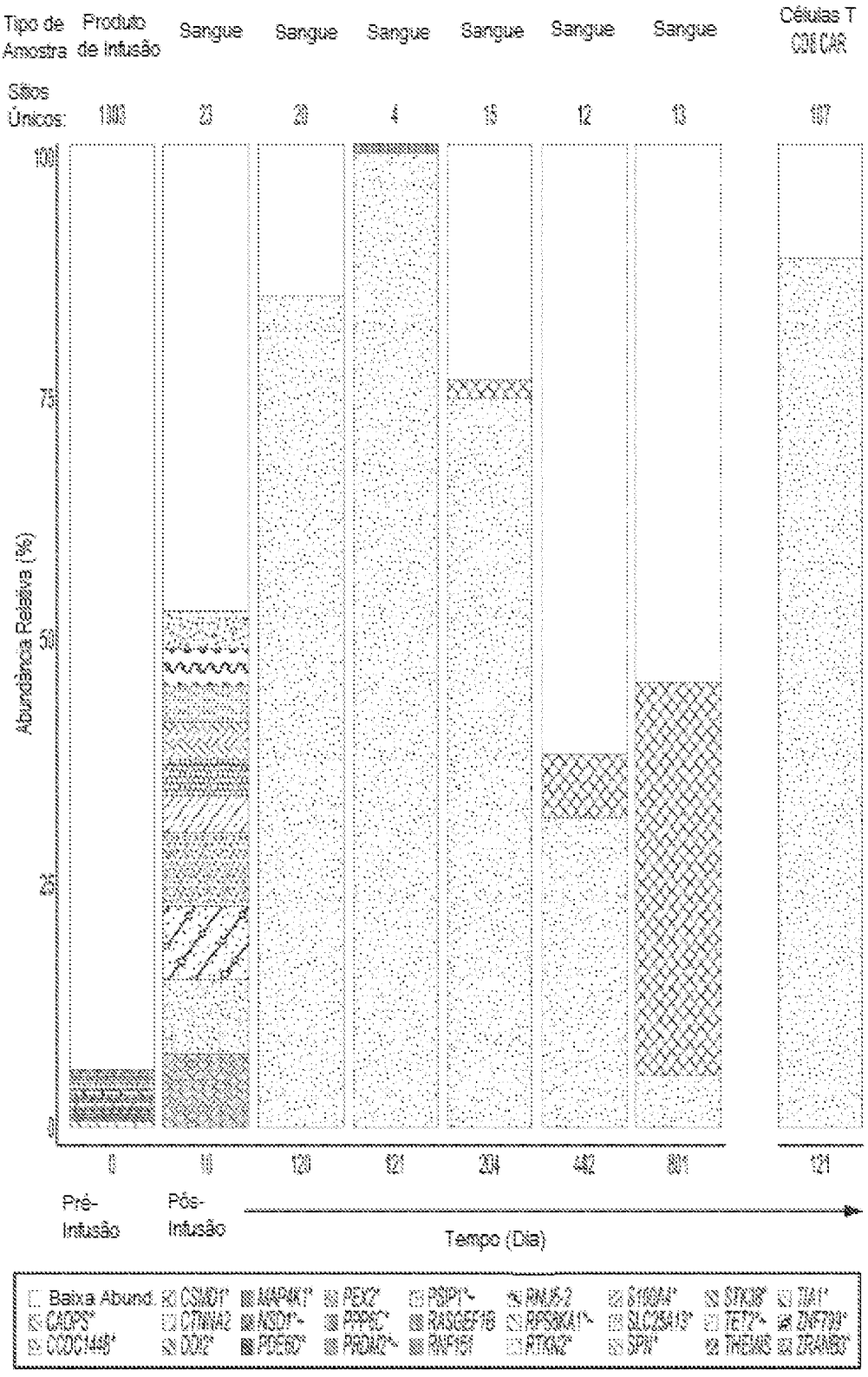
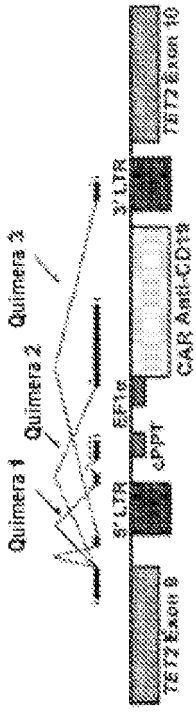
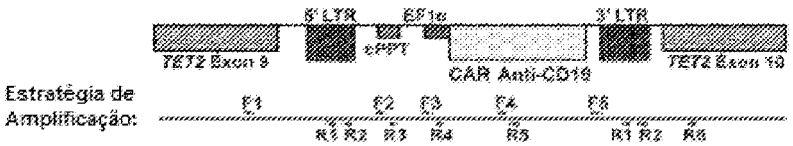

Tipo de Amostra
Produto de Infusão
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Células T CD8 CAR
Sítios Únicos:
1380
23
28
4
15
12
13
187
100
75
50
25
0
Abundância Relativa (%)
1
11
128
121
284
442
801
121
Pré-Infusão
Pós-Infusão
Tempo (Dia)
Baixa Abund.
CADPS
CCDC144B
CCND1
CDH2
CTNNA2
DDX2
KIAA0947
KIDINS
PDE8B
PEX2
PPP1C
PRDM2
PSPC1
RASGEF1B
RNF150
RNLS.2
RPS6KA1
PTK2
SH3KBP1
SPW
STK38
TET2
THEMIS
TIAM1
ZNF292
ZRANB2

FIG. 5B



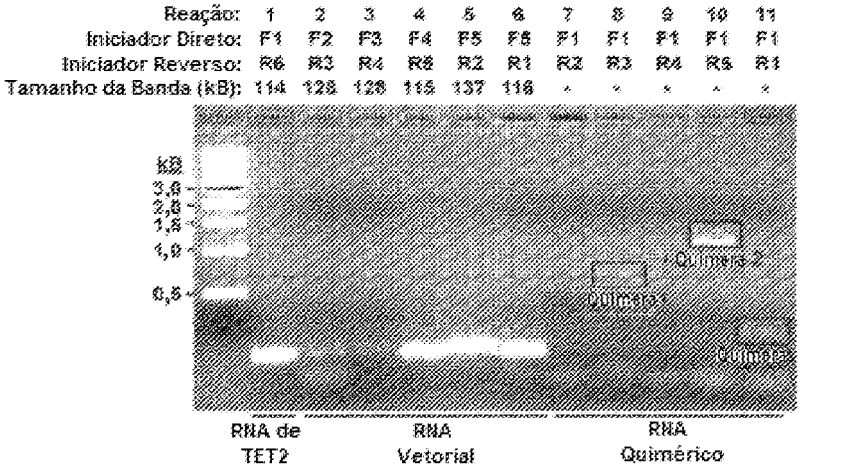
Quimera	Sítio Encadeamento	Sequência Doadora		Sequência Aceitadora	
1	1º	ACAUUG	GUAAGU	CACUAG	CAGUGG
1	2º	GACUGG	UGAGUA	GUUAUG	CAGGGA
2	1º	ACAUUG	GUAAGU	UUUCAG	GUGUCG
3	1º	ACAUUG	GUAAGU	UAACAG	GUUGGA
3	2º	GAACUA	AUGUAG	GCGCAG	UGCAAG

FIG. 6A



Iniciador	Alvo	Direção	Sequência
F1	TET2 éxon 9	Direto	GACTTGCACAACATGCAGAA
R6	TET2 éxon 10	Reverso	GTATAAAGGCAGAACGTGAAGC
R1	Vetor elemento R	Reverso	AGCAGTGGGTTCCCTAGTTA
R3	Vetor elemento cPPT	Reverso	TGCCATTTGTACTGCTGTCTTA
R4	Vetor promotor EF1α	Reverso	CAAGGGGCATAACCCGTAAA
R5	Vetor região 4-1BB (CAR)	Reverso	GCCATCTTCCTCTTGAGTAGTT
R2	Vetor LTR sinal poli(A)	Reverso	GGGAAGGTTTATTGAGGCTT
F2	Vetor elemento cPPT	Direto	AGGAATTGGCATTCCCTACA
F3	Vetor promotor EF1α	Direto	GGAGAACCATATATAAGTGCAGTAG
F4	Vetor região 4-1BB (CAR)	Direto	CCTTCTCCTGTCAACTGGTTATC
F5	Vetor elemento R	Direto	GAAGGCTAATTCACTCCCAA

FIG. 6B



Alvos da Reação

1: *TET2* junção éxon 9 e 10
2: Vetor elemento cPPT
3: Vetor promotor EF1α
4: Vetor região 4-1BB (CAR)
5: Vetor LTR região U5
6: Vetor LTR região R
7: *TET2* éxon 9 até LTR região U5
8: *TET2* éxon 9 até elemento cPPT
9: *TET2* éxon 9 até promotor EF1α
10: *TET2* éxon 9 até região 4-1BB (CAR)
11: *TET2* éxon 9 até LTR região R

FIG. 7A

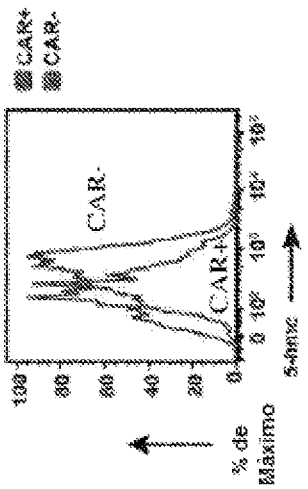


FIG. 7B

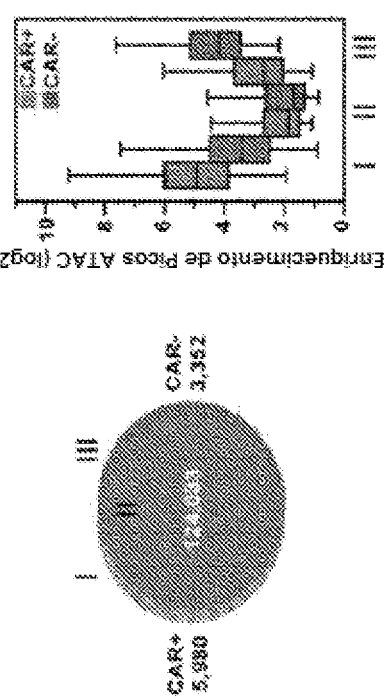


FIG. 7C

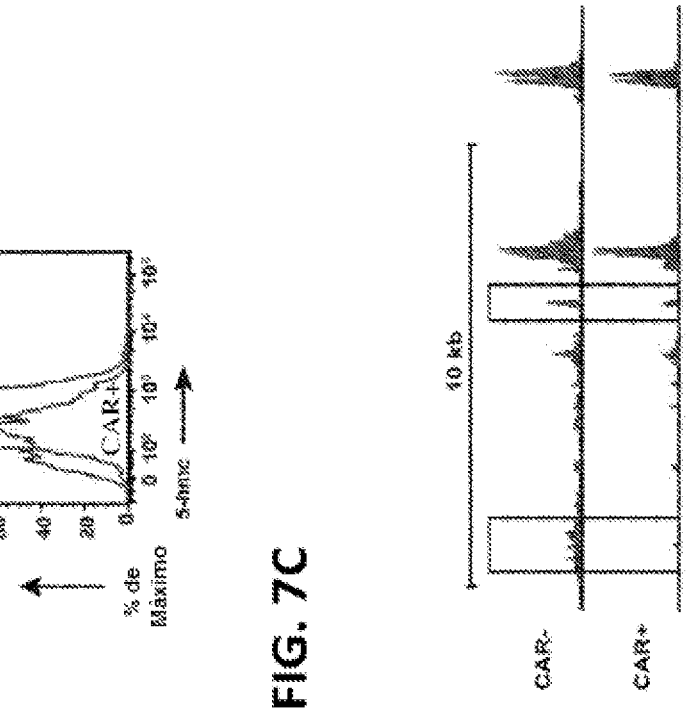


FIG. 7D

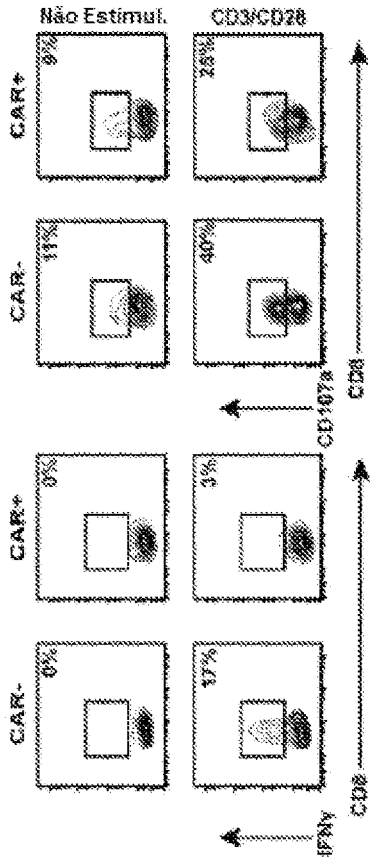


FIG. 7E

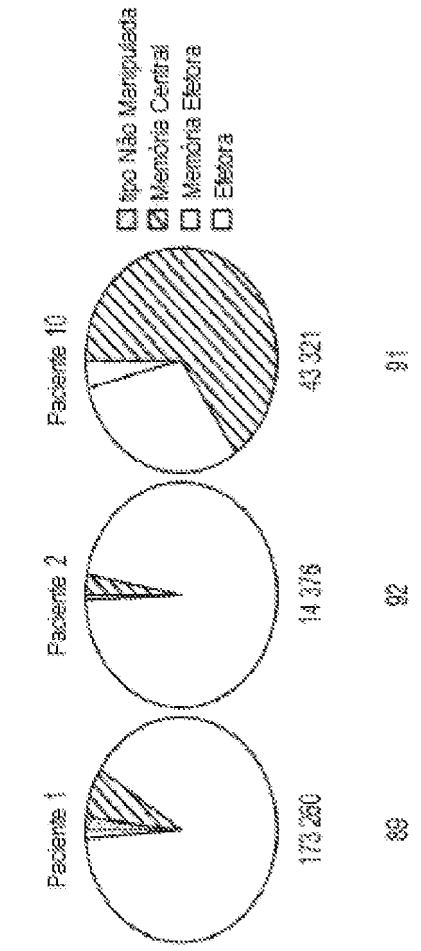

Paciente 1
Paciente 2
Paciente 10
Tipo Não Manipulado
Memória Central
Memória Efetora
Efetora
Nível de Células T CAR (cópias/µg de DNA)
173.250
14.378
43.321
CD8+ CAR+ HLADR+ (%)
89
92
91

FIG. 7F

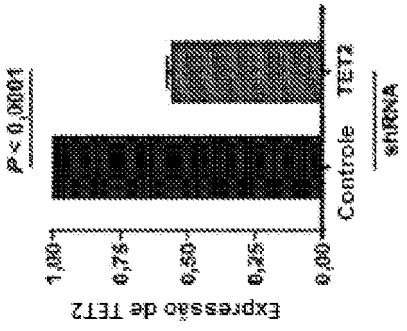

P < 0,0001
Expressão de TET2
1,00
0,75
0,50
0,25
0,00
Controle
TET2
shRNA

FIG. 7G

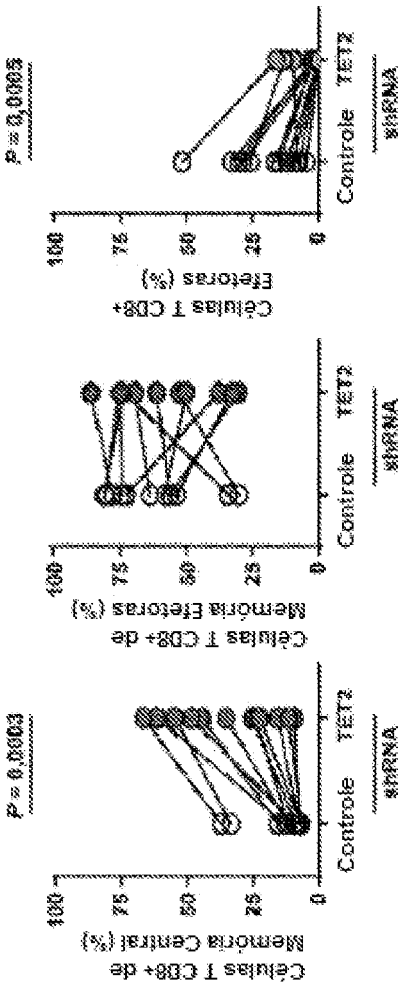

P = 0,0003
Células T CD8+ de Memória Central (%)
P = 0,0003
Células T CD8+ de Memória Efetoras (%)
P = 0,0003
Células T CD8+ Efetoras (%)
100
75
50
25
0
Controle
TET2
shRNA

FIG. 8

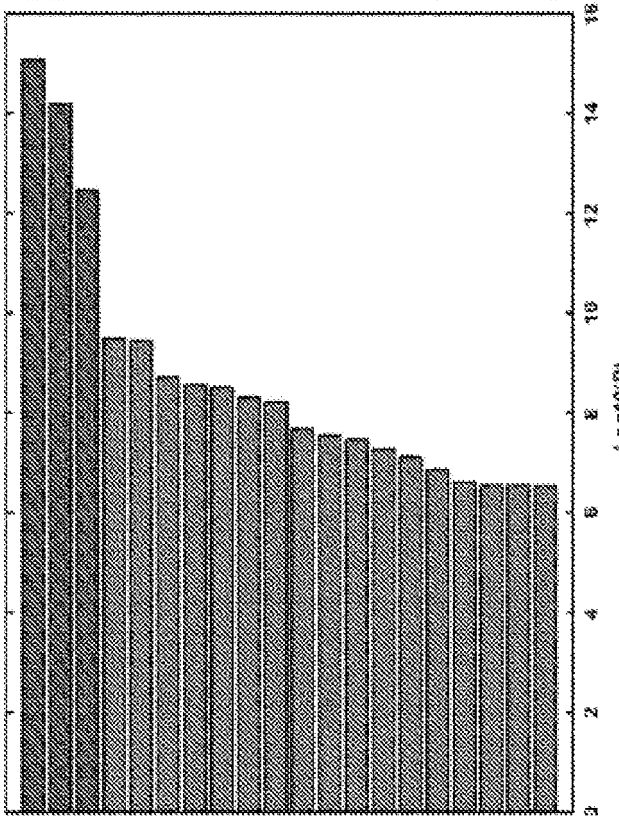

Diferenciação de leucócitos
Regulação positiva de processos do sistema imune
Via de sinalização de proteína tirosina cinases receptoras de transmembrana
Regulação da morfogênese da estrutura anatômica
Hallmark Sinalização de TNFa através de NFkB
Regulação positiva da atividade de hidrolase
Cicatrização de feridas
Ativação de células T alfa-beta
Regulação do movimento de componentes celulares
Resposta inflamatória
Diferenciação de células mieloides
Produção de citocinas
Hallmark Resposta a radiação ultravioleta (UV) subregulada
Regulação negativa do processo de organismos multicelulares
Morfogênese de vasos sanguíneos
Transcrição dependente de NFAT regulada por calcineurina em linfócitos
Regulação positiva do processo apoptótico
Hallmark Hipoxia
Hallmark Sinalização de KRAS sobrerregulada
Cascata de sinalização de proteína cinases ativadas pelo estresse
2
4
6
8
10
12
14
16
-Log10(FDR)

FIG. 9

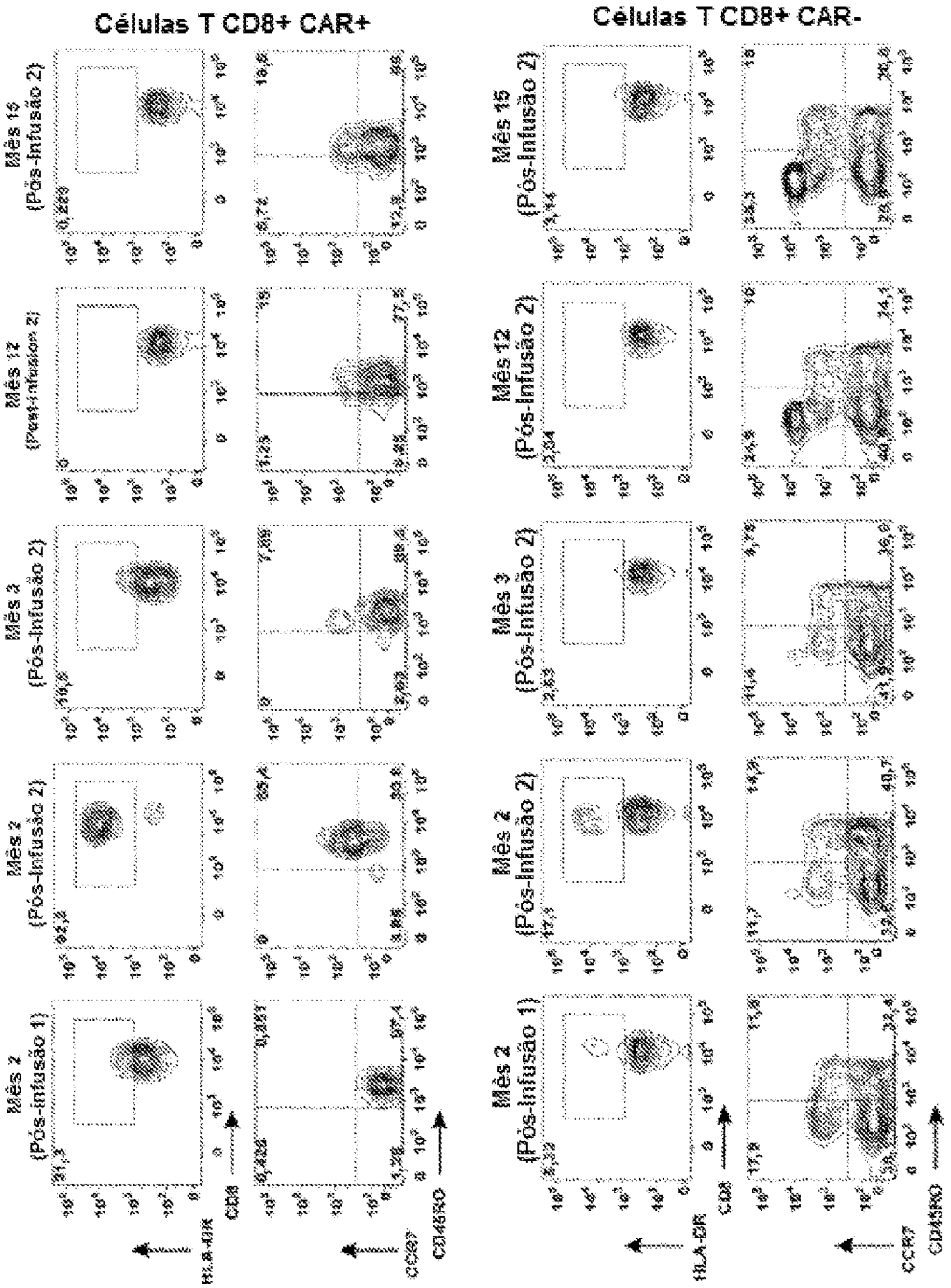

Células T CD8+ CAR+
Células T CD8+ CAR-
Mês 2 (Pós-infusão 1)
Mês 2 (Pós-infusão 2)
Mês 3 (Pós-infusão 2)
Mês 12 (Pós-infusão 2)
Mês 15 (Pós-infusão 2)
Mês 16 (Pós-infusão 2)
HLA-DR
CD8
CCR7
CD45RO

FIG. 10A

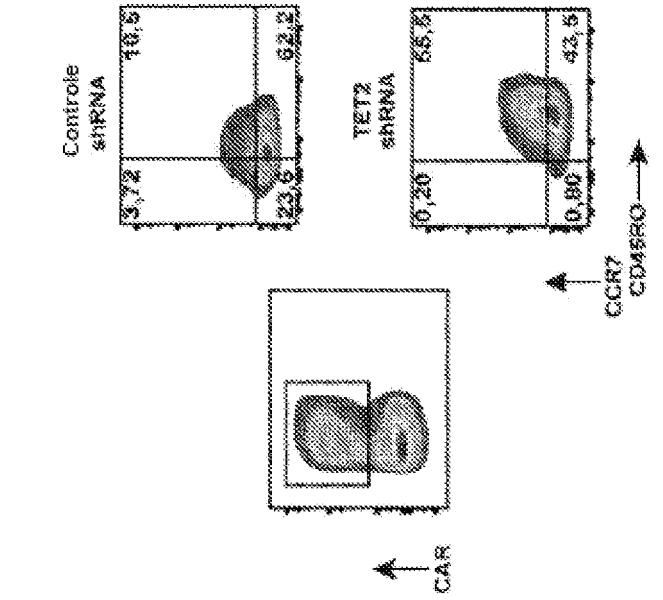


FIG. 10B

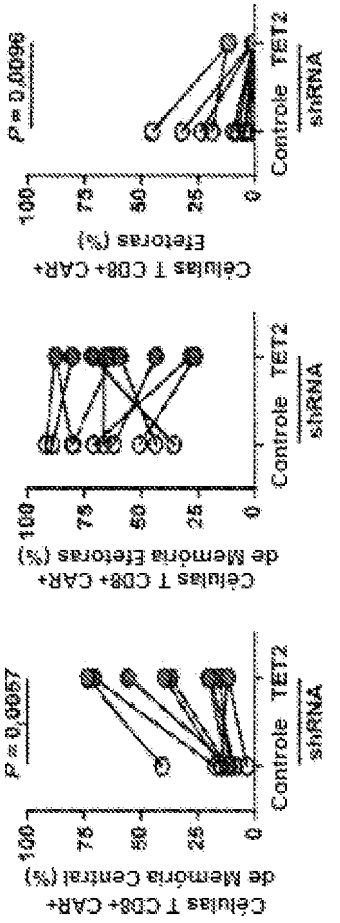


FIG. 10C

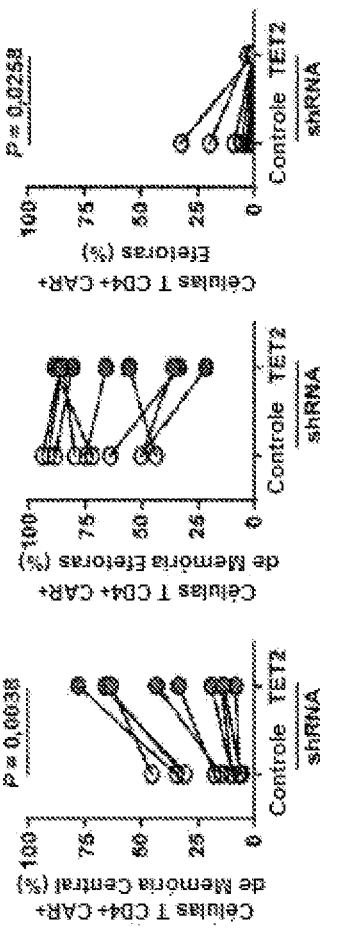


FIG. 11A

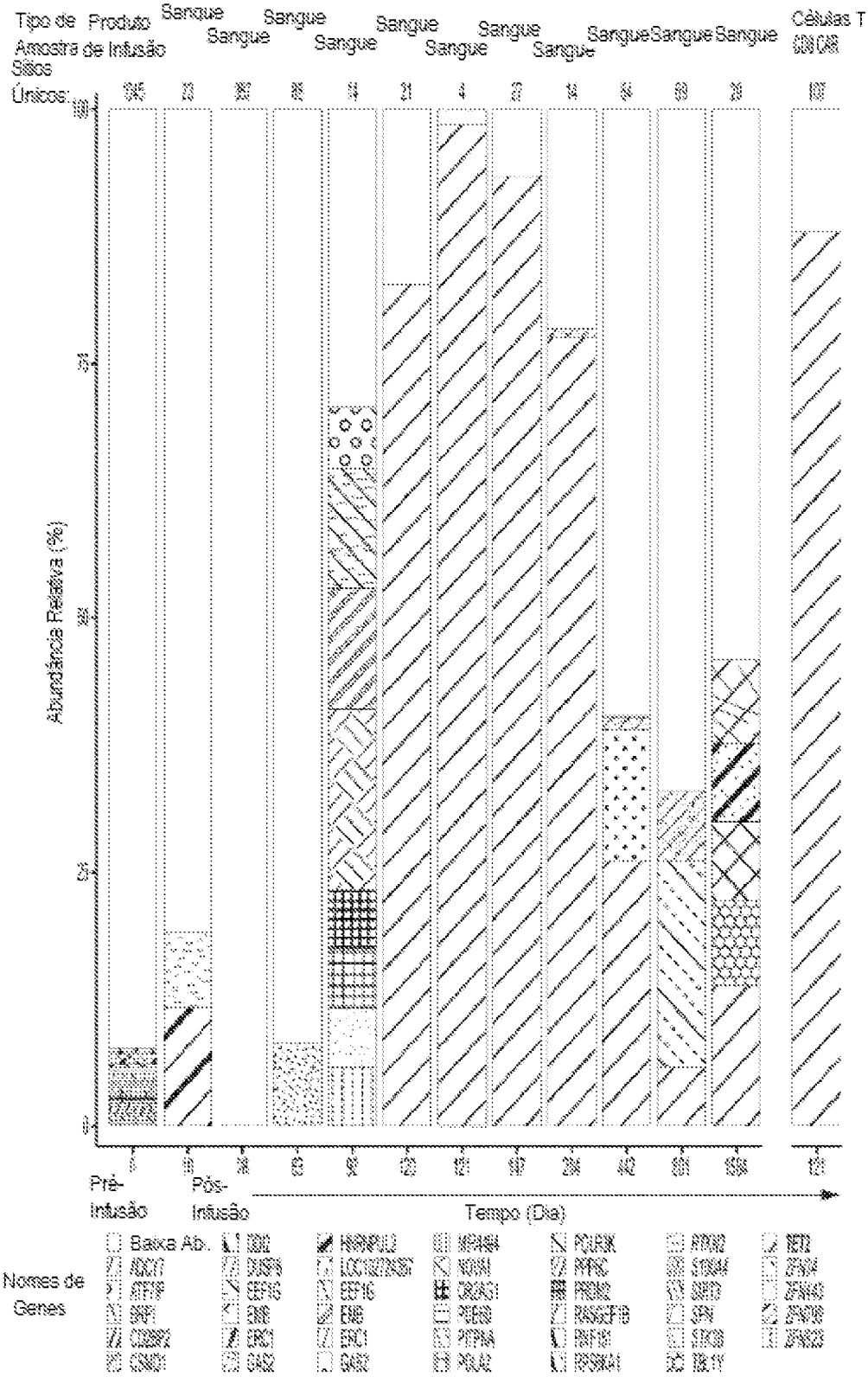

Tipo de Amostra
Produto de Infusão
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Sangue
Células T
Sítios Únicos:
Abundância Relativa (%)
Pré-Infusão
Pós-Infusão
Tempo (Dia)
Baixa Ab.
Nomes de Genes

FIG. 11B

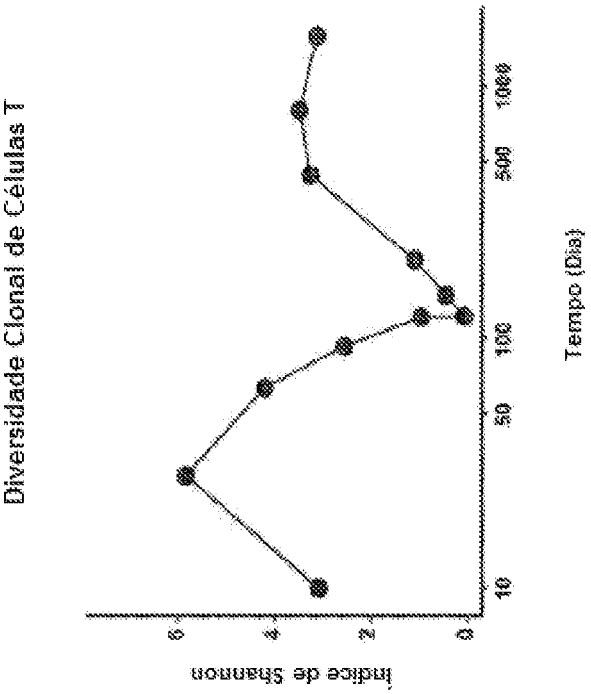


FIG. 11C

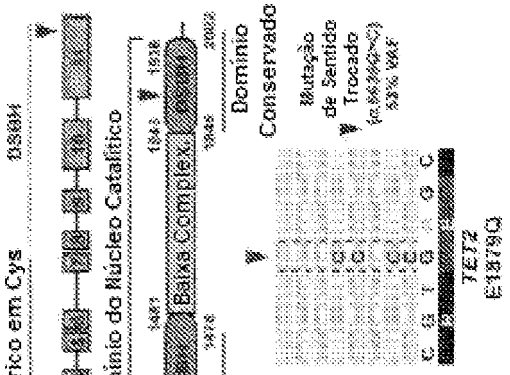


FIG. 11D

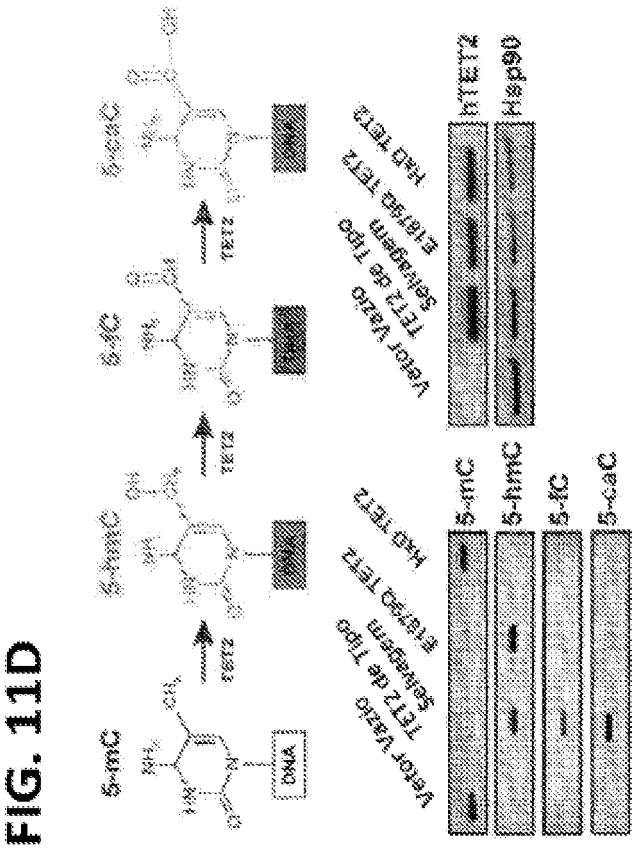

5-mC
5-hmC
5-fC
5-caC
DNA
TET2
TET2
TET2
Vector Vazio
TET2 de Tipo Selvagem
E1673Q TET2
H&D TET2
Vector Vazio
TET2 de Tipo Selvagem
E1673Q TET2
H&D TET2
5-mC
5-hmC
5-fC
5-caC
hTET2
Hsp90

FIG. 11E

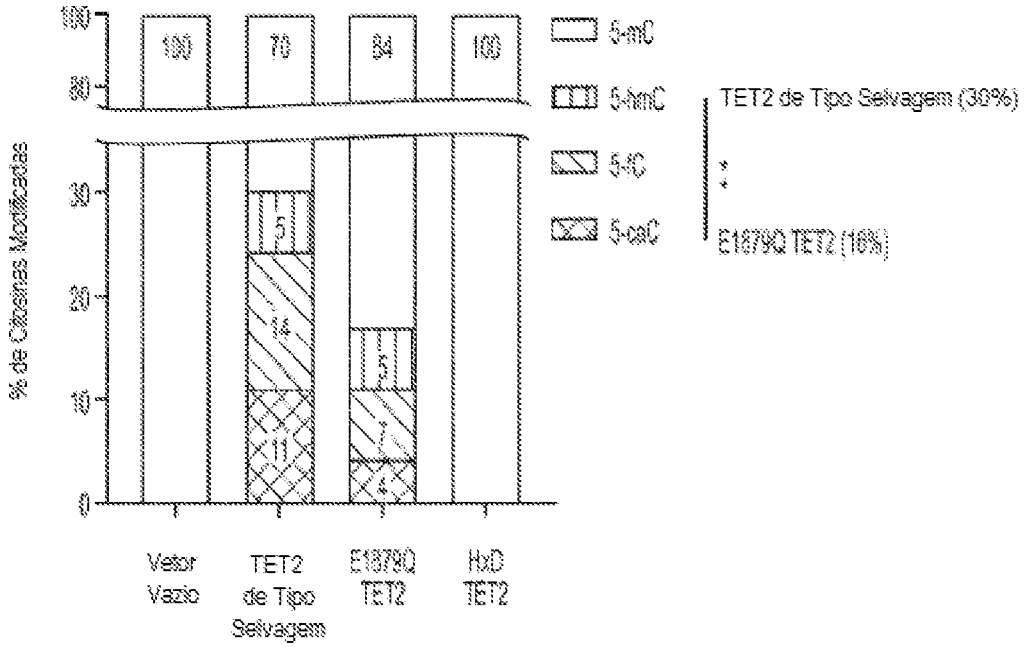

% de Citosinas Modificadas
100
80
60
40
20
0
100
70
84
100
5
14
5
11
5
4
5-mC
5-hmC
5-fC
5-caC
TET2 de Tipo Selvagem (30%)
*
E1879Q TET2 (16%)
Vetor Vazio
TET2 de Tipo Selvagem
E1879Q TET2
HxD TET2

FIG. 12A

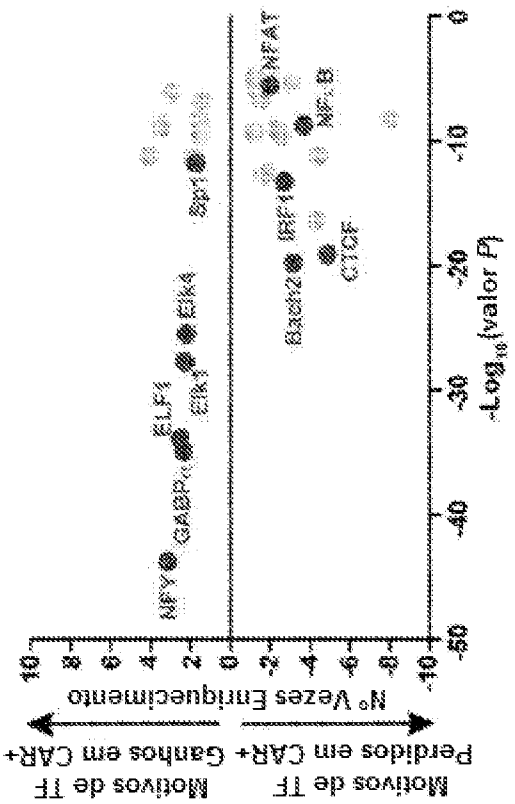

Motivos de TF
Perdidos em CAR+
Motivos de TF
Ganhos em CAR+
Nº Vezes Enriquecimento
10
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
-60
-40
-30
-20
-10
0
-Log10(valor P)
MFY
GABPA
ELF1
Elk1
Elk4
Spi1
Bach2
IRF1
CTCF
NFAT
NF-κB

FIG. 12B

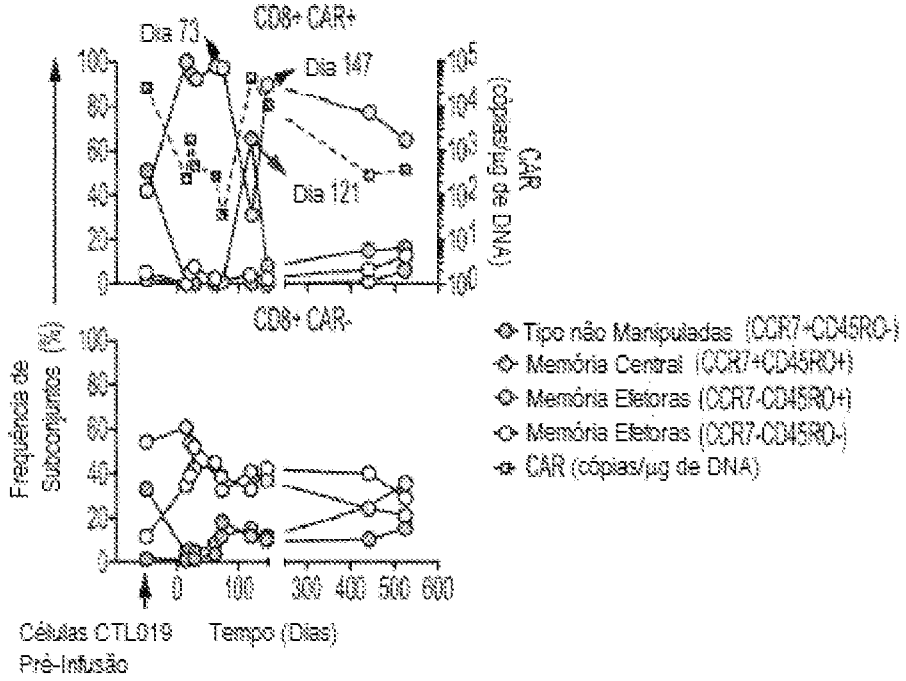

CD8+ CAR+
Dia 73
Dia 147
Dia 121
CAR (cópias/µg de DNA)
CD8+ CAR-
Frequência de Subconjuntos (%)
Células CTL019 Pré-Infusão
Tempo (Dias)
Tipo não Manipuladas (CCR7+CD45RO-)
Memória Central (CCR7+CD45RO+)
Memória Efetoras (CCR7-CD45RO+)
Memória Efetoras (CCR7-CD45RO-)
CAR (cópias/µg de DNA)

FIG. 12C

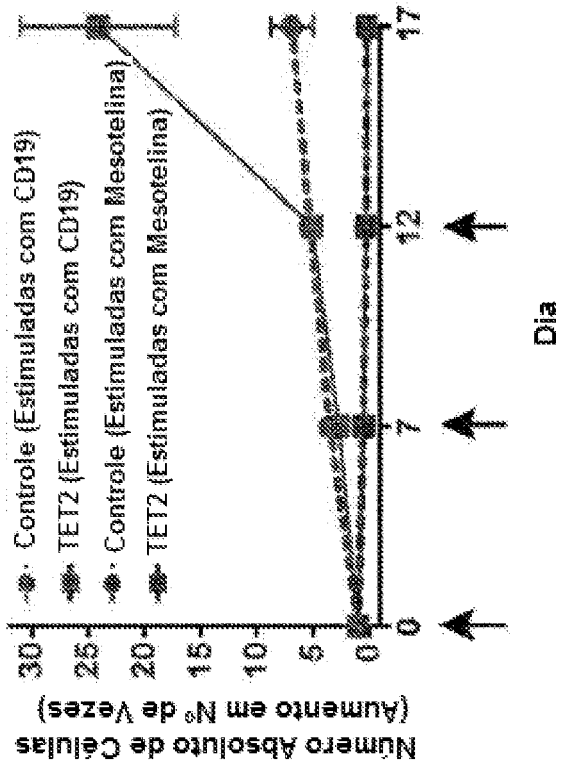

Número Absoluto de Células
(Aumento em Nº de Vezes)
30
25
20
15
10
5
0
0
7
12
17
Dia
Controle (Estimuladas com CD19)
TET2 (Estimuladas com CD19)
Controle (Estimuladas com Mesotelina)
TET2 (Estimuladas com Mesotelina)
*

FIG. 13

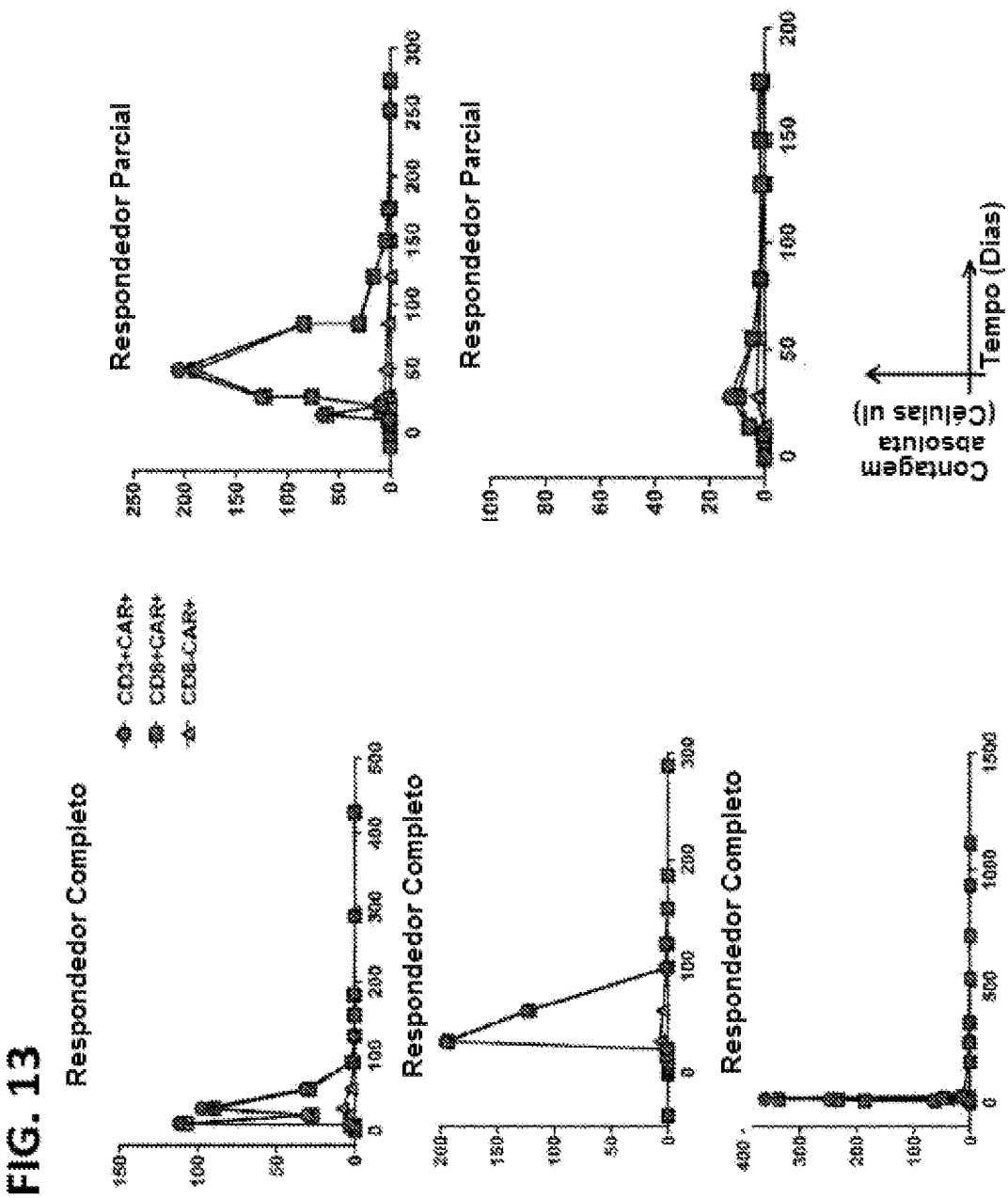

Respondedor Completo
Respondedor Parcial
CD3+CAR+
CD8+CAR+
CD8-CAR+
Contagem absoluta (Celulas u/l)
Tempo (Dias)

FIG. 14A

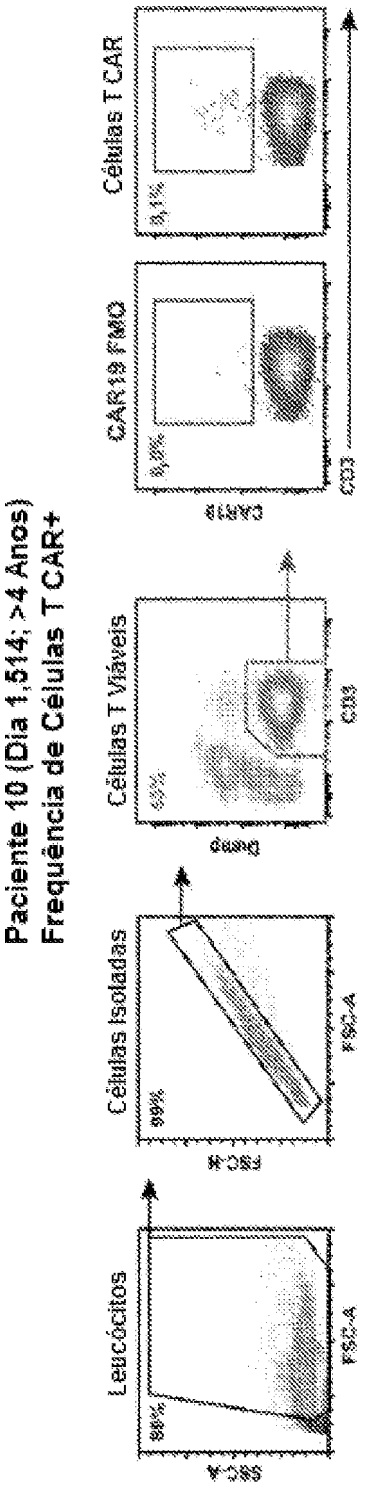
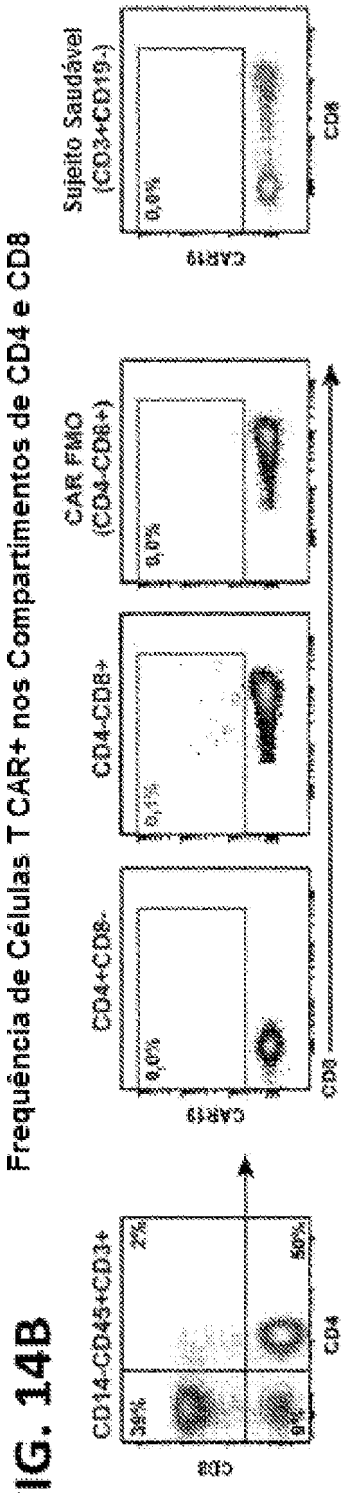


FIG. 14B

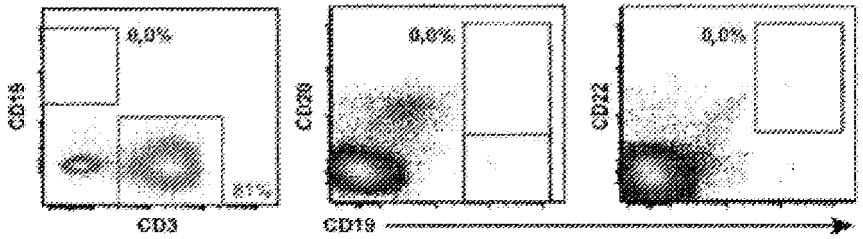


Petição 870190117962, de 14/11/2019, pág. 665/678

FIG. 14C

Frequências de Células B

CD45+ SSC Baixo (Paciente 10)



CD45+ SSC Baixo (Sujeito Saudável)

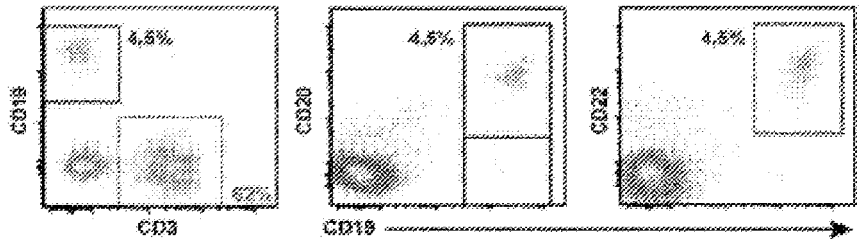


FIG. 14D

Enumeração de Células do Sangue Periférico

População de Células	Frequência (%)
CD45+CD14-	65
CD3+(Vivas/Mortas Corante-)	53
CD3+CD8+	39
CD3+CD4+	51
CD3+CD4+CD8+	2
CD3-CD56+	16
CD3+CD56+	2
CD3+HLA-DR+	5
CD3+CD4+CD8-HLA-DR+	6
CD3+CD4-CD8+HLA-DR+	3
γδ TCR+	9
γδ TCR+CD4+	0,75
γδ TCR+CD8+	8
CD3+CAR19+	0,1
CD3+CD4+CAR19+	0
CD3+CD8+CAR19+	0,1
CD3+HLA-DR+CAR19+	0
γδ TCR+CAR19+	0
CD19+	0

FIG. 14E

Detecção à Base de q-PCR de CAR19 no Sangue Periférico

Ct Médio	DP	Marcação Média/Célula (%)	Cópias/µg de DNA
33,58	0,09	0,0880	136,54

FIG. 15

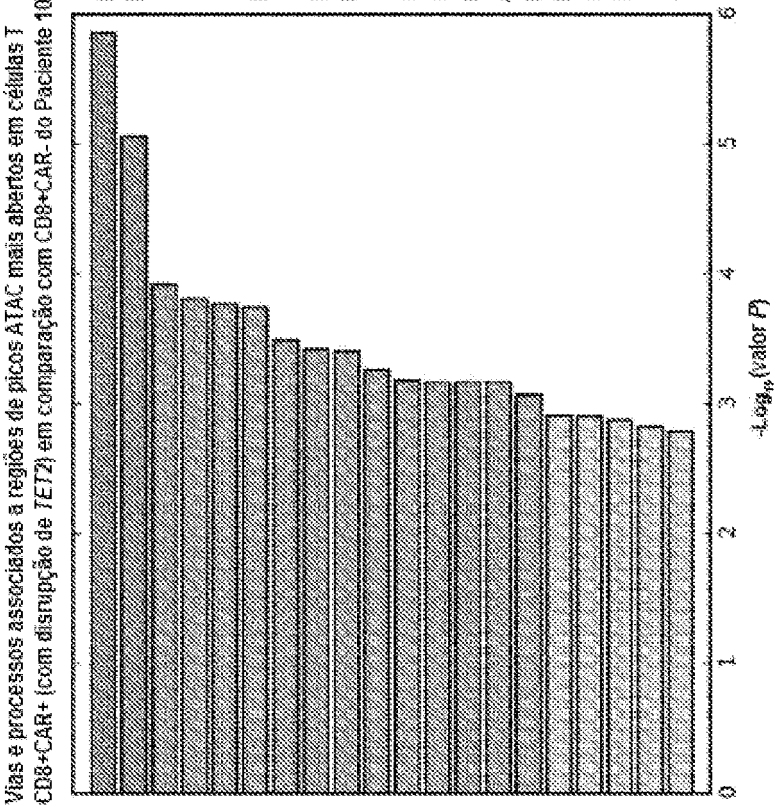
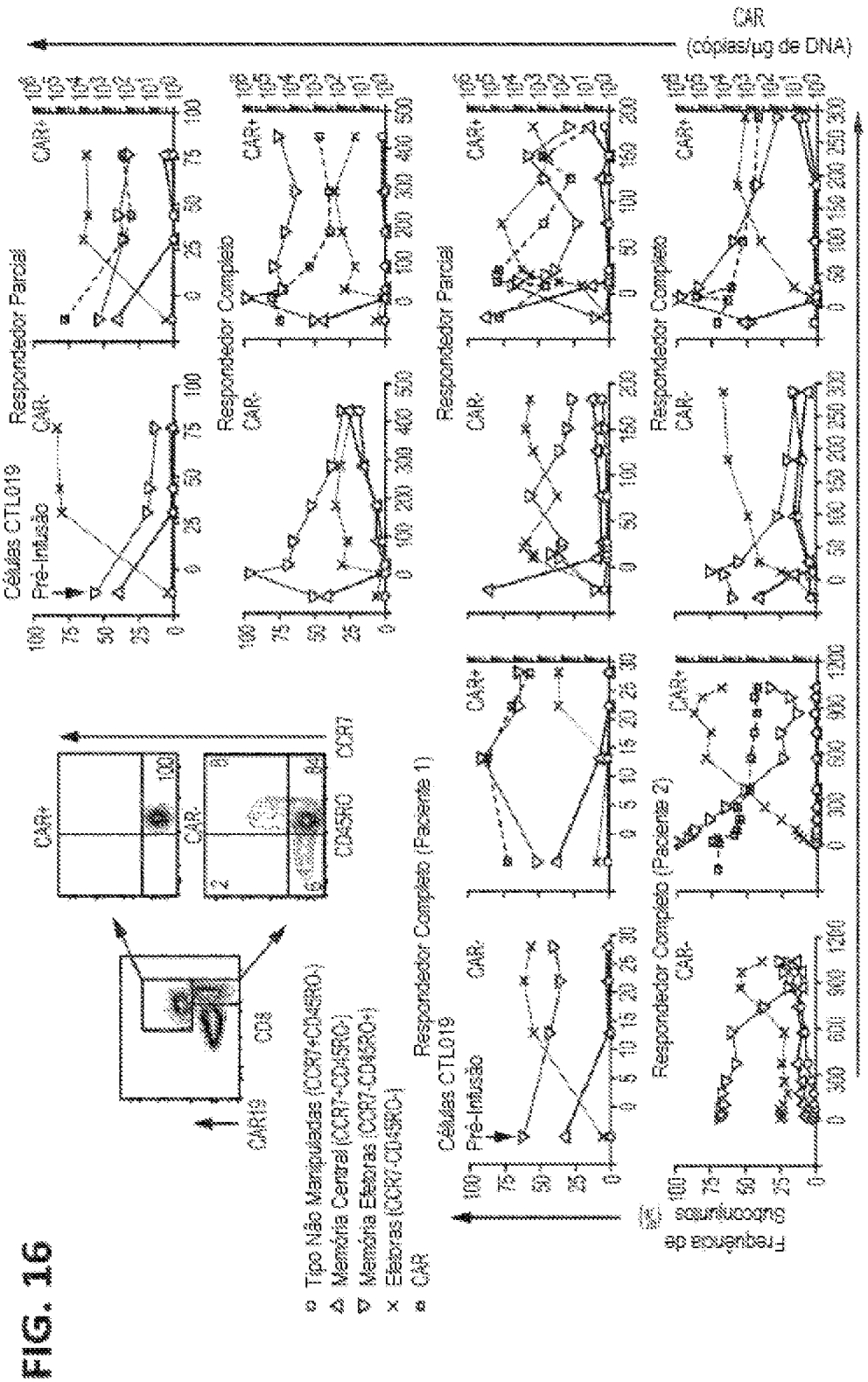

Vias e processos associados a regiões de picos ATAC mais abertos em células T CD8+CAR+ (com disrupção de TET2) em comparação com CD8+CAR- do Paciente 10
Regulação do ciclo de células mitóticas
Regulação da divisão nuclear mitótica
Via de PID PLK1
Via de sinalização de receptores de células T
Processo metabólico de glioxilato
Processo biossintético de derivados de carbo-hidratos
Processo biossintético de amidas
Hallmark Sinalização de mTORC1
Regulação negativa do processo de modificação de proteínas
Processo catabólico de compostos contendo purina
Resposta celular a lipídeos
Metabolismo da vitamina B6
Direcionamento de proteínas pós-tradução para membrana
Ativação da atividade de canais de cálcio operados por armazenamento
Regulação da transdução do sinal da proteína Rho
Resposta celular a estímulo de danificação de DNA
Direcionamento de proteínas para o ER
Resposta a radiação ionizante
Organização do núcleo
Processo viral
0
1
2
3
4
5
6
-Log10 (valor P)

FIG. 16


CAR
(cópias/µg de DNA)
Células CTL019
Pré-Infusão
CAR+
CAR-
Respondedor Parcial
Respondedor Completo
Respondedor Completo (Paciente 1)
Respondedor Completo (Paciente 2)
Frequência de Subconjuntos (%)
CAR19
CD8
CD45RO
CCR7
Tipo Não Manipulados (CCR7+CD45RO-)
Memória Central (CCR7+CD45RO+)
Memória Efetoras (CCR7-CD45RO+)
Efetoras (CCR7-CD45RO-)
CAR

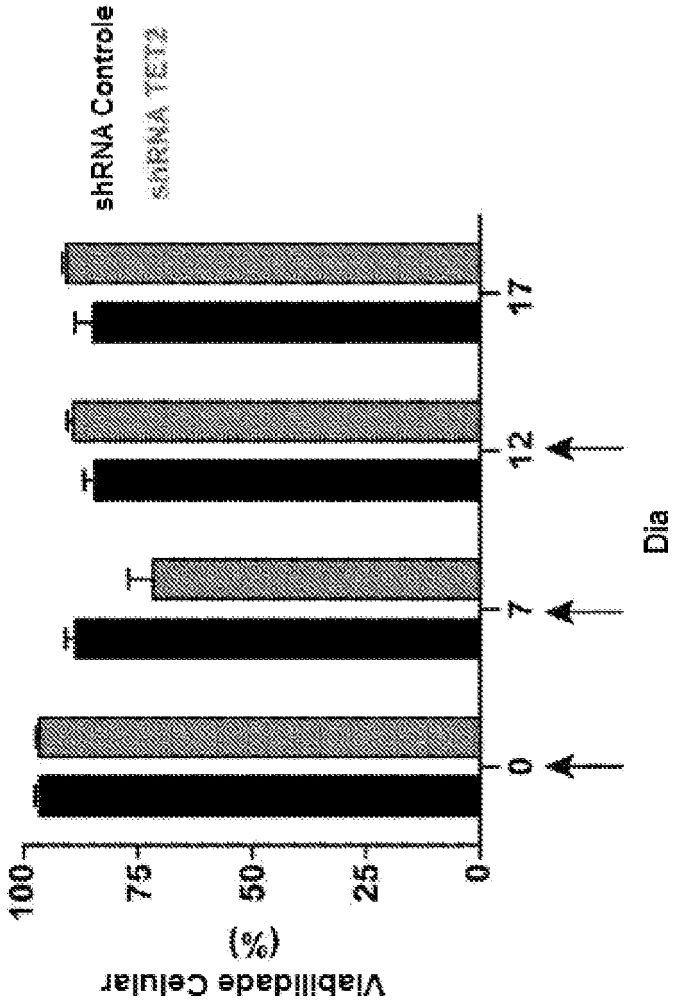

shRNA Controle
siRNA TET2
Viabilidade Celular
(%)
100
75
50
25
0
0
7
12
17
Dia

FIG. 17

FIG. 18A

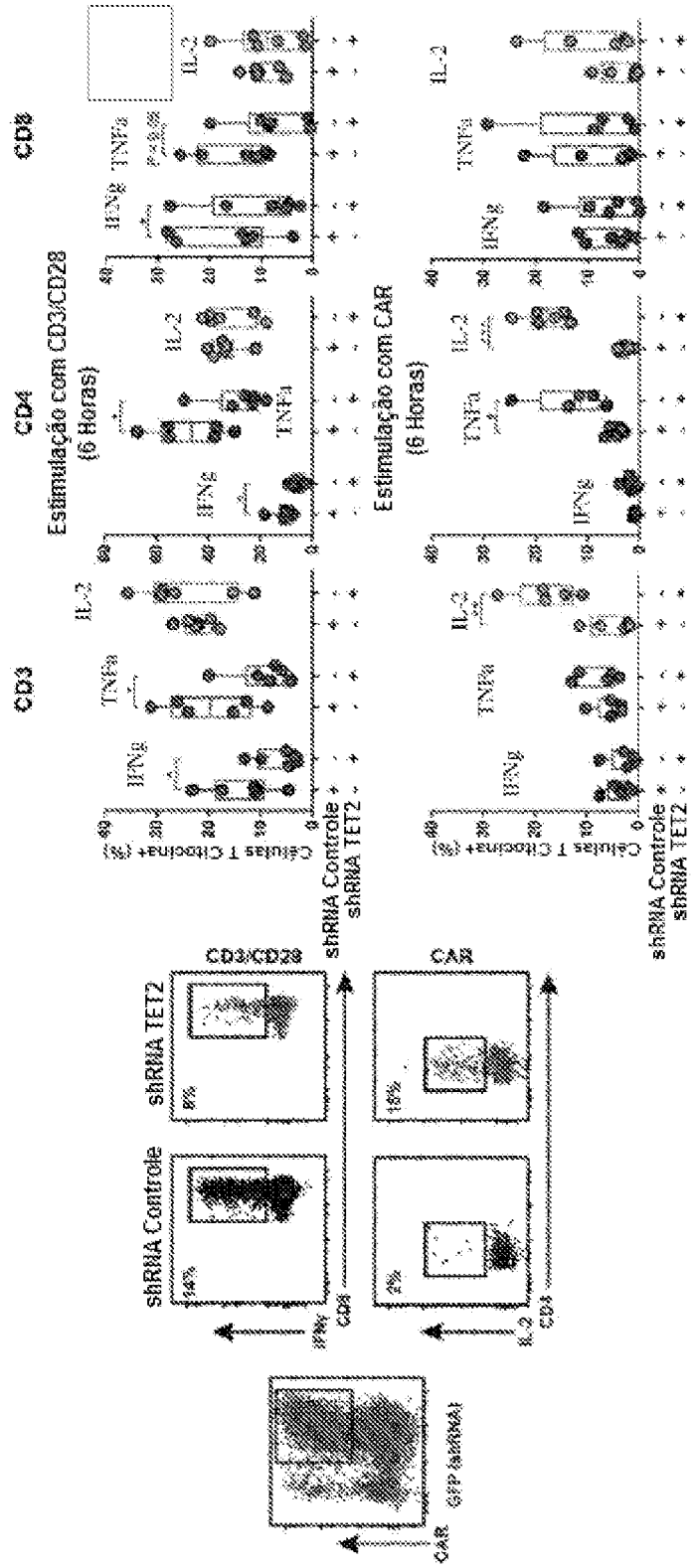

CD3
CD4
CD8
Estimulação com CD3/CD28
(6 Horas)
Estimulação com CAR
(6 Horas)
IFNg
TNFa
IL-2
Células T Citocina+ (%)
shRNA Controle
shRNA TET2
CD3/CD28
CAR
GFP (shRNA)
CD8
CD4
14%
8%
2%
18%

FIG. 18B

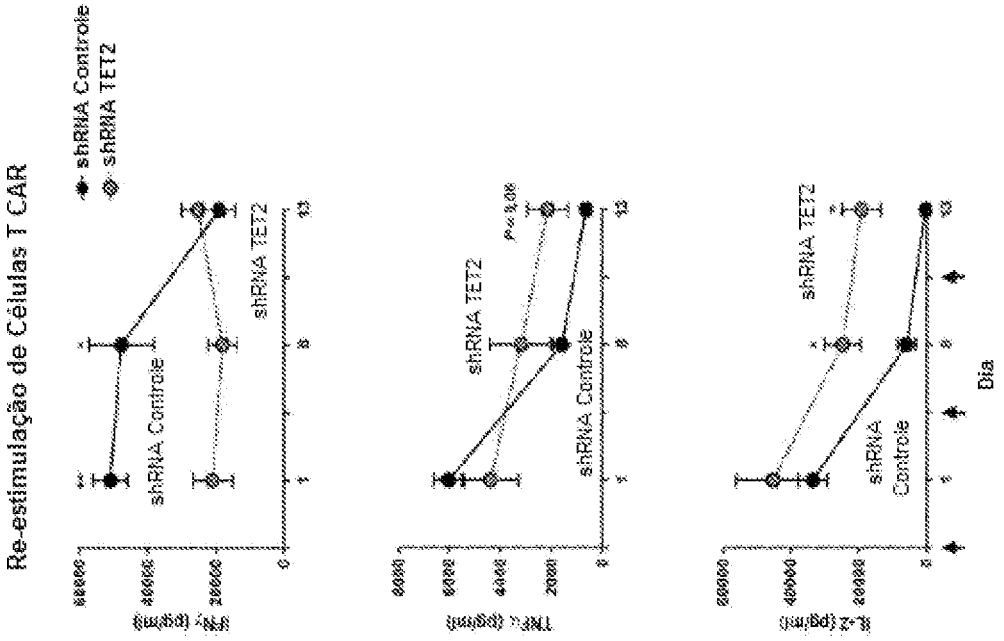

Re-estimulação de Células T CAR
shRNA Controle
shRNA TET2
shRNA Controle
shRNA TET2
shRNA TET2
shRNA Controle
shRNA TET2
shRNA Controle
Dia

FIG. 19A

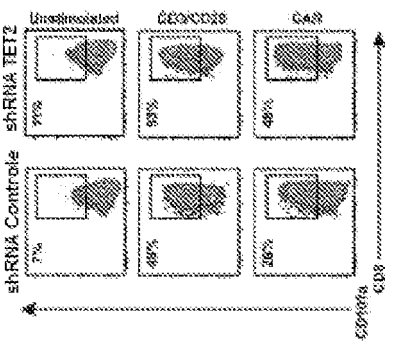


FIG. 19B

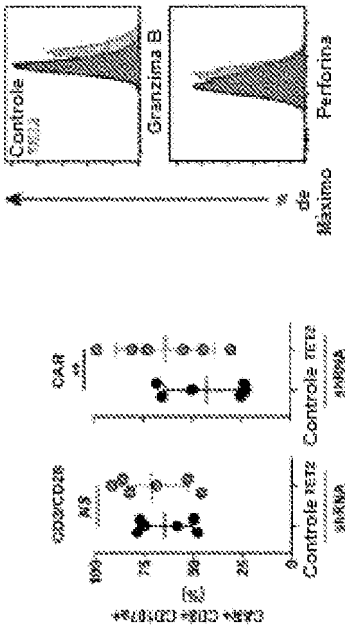


FIG. 19C

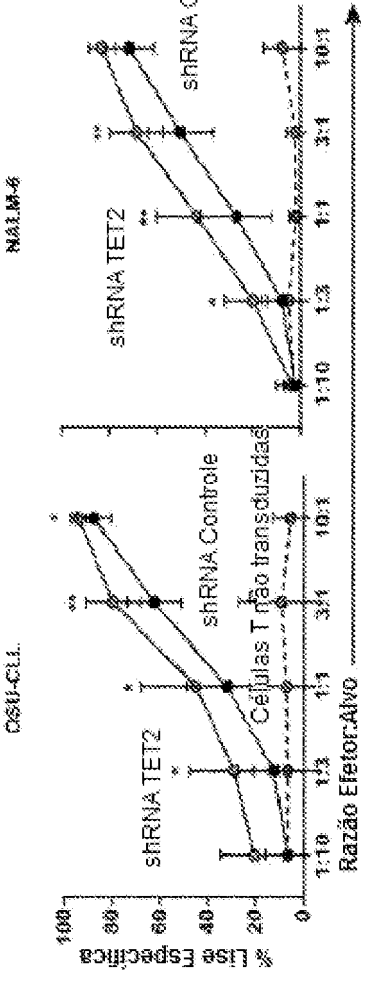


FIG. 20A

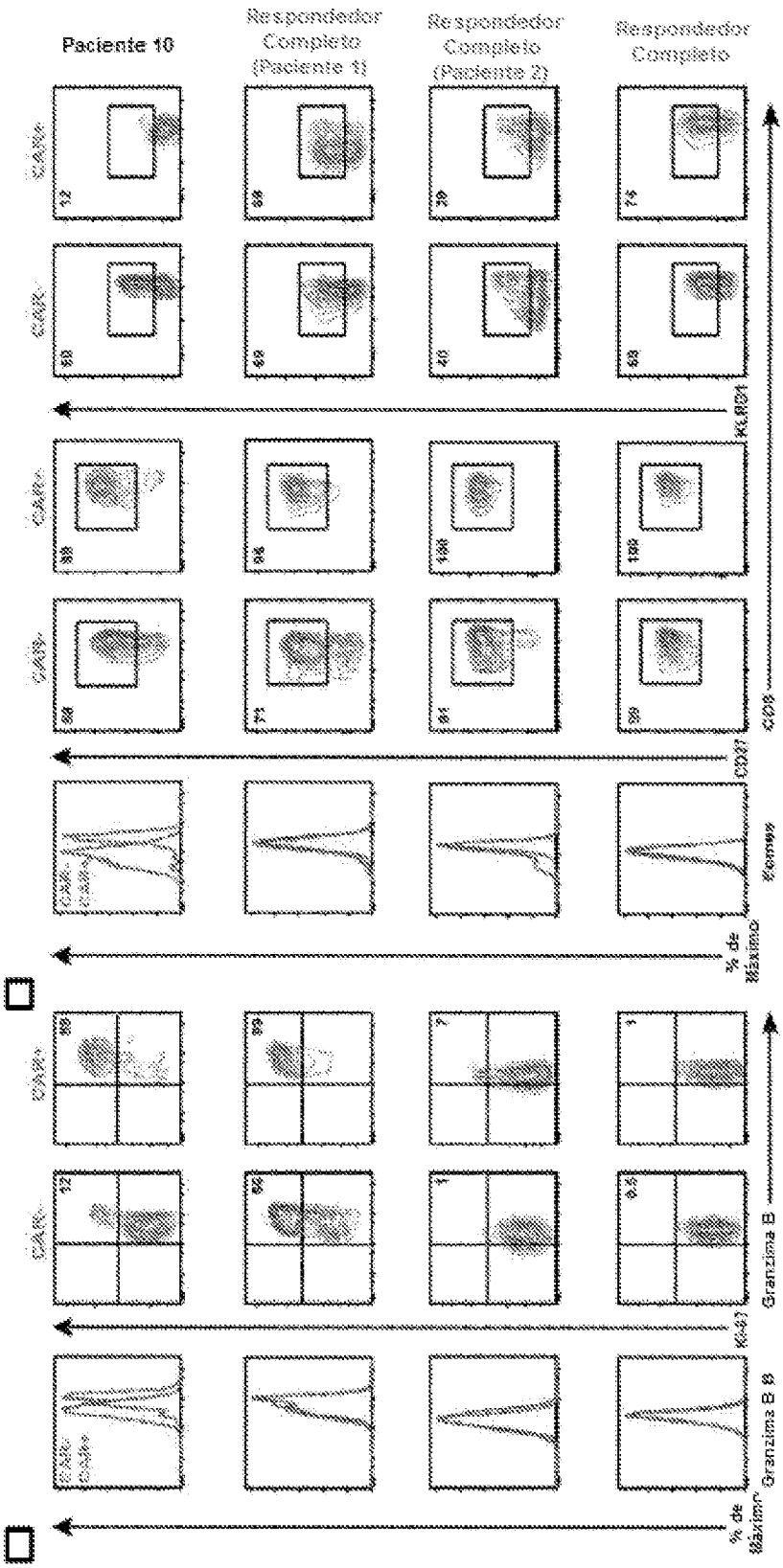


FIG. 20B

RESUMO

Patente de Invenção: **"BIOMARCADORES E TERAPIAS COM CÉLULAS T CAR COM EFICÁCIA INTENSIFICADA".**

A invenção refere-se a composições e métodos aperfeiçoados de terapias com célula T CAR. Especificamente, a invenção proporciona células com expressão e/ou função alteradas de um ou mais genes, por exemplo, associados a Tet2, e seus métodos de uso. A invenção ainda proporciona inibidores do um ou mais genes e métodos de uso dos mesmos em conexão com células T CAR.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: LISTAGEM DE SEQUÊNCIA 30 OU 60 DIAS 24.10.19
- Data de Geração do Código: 14/11/2019
- Hora de Geração do Código: 14:25:28
- Código de Controle:
  - Campo 1: 986DAABA386260A5
  - Campo 2: AA564C6AEBE884B3